Curtis D. Klaassen
John B. Watkins III

FUNDAMENTOS em TOXICOLOGIA

de Casarett e Doull

2ª Edição

Mc Graw Hill
artmed

LANGE

NOTA DAS COORDENADORAS DE TRADUÇÃO

A tradução de uma obra tão importante quanto esta demanda uma série de esforços, mesmo para aqueles absolutamente familiarizados com o assunto em questão. Coordená-la constituiu um desafio extra.

Dentre tantos quadros importantes no cenário da Toxicologia no Brasil, buscamos profissionais que em sua lide diária militam na área dessa Ciência, tão ampla em sua abrangência. A principal dificuldade encontrada, como é frequente na tradução de texto técnico, foi a necessidade de adequação dos termos e expressões da língua de origem para o Português. Em alguns casos, houve a necessidade de uma interpretação do conteúdo que estava sendo traduzido, pois a tradução literal não encontra correspondência em nosso vernáculo. O texto original continha muitos nomes de plantas, fungos, animais, entre outros, que, muitas vezes, na tradução literal não encontra correspondência do nome popular no Brasil. Além disso, muitas substâncias químicas também careceram de correspondência em português ou até mesmo de uma explicação sobre seu significado. Conforme solicitação dos editores, a tradução deveria restringir-se à fidelidade do texto e, dessa forma, os fatos acima relacionados, quando aconteceram, foram devidamente reportados na forma de NT (Nota do Tradutor).

Reiteramos nossa satisfação em ter coordenado esse trabalho que, temos certeza, será de grande utilidade para acadêmicos e comunidade científica de nosso País.

A todos os tradutores, nossos agradecimentos!

Alice A. da Matta Chasin e Flavia Thiesen

K63f Klaassen, Curtis D.
Fundamentos em toxicologia de Casarett e Doull [recurso eletrônico] / Curtis D. Klaassen, John B. Watkins III ; [tradução: Adelaide José Vaz ... et al.] ; revisão técnica: Flavia Thiesen, Alice A. da Matta Chasin. – 2. ed. – Dados eletrônico. – Porto Alegre : AMGH, 2012.

Editado também como livro impresso em 2012.
ISBN 978-85-8055-132-7

1. Toxicologia. I. Watkins, John B., III. II. Título.

CDU 615.9

Catalogação na publicação: Ana Paula M. Magnus – CRB 10/2052

Curtis D. Klaassen
John B. Watkins III

FUNDAMENTOS em TOXICOLOGIA de Casarett e Doull

2ª Edição

Consultoria, supervisão e revisão técnica desta edição:

Flavia Thiesen
Farmacêutica Bioquímica. Doutora em Ciências pela UNIFESP. Mestre em Farmacologia pela UFCSPA. Especialista em Toxicologia Aplicada pela PUCRS. Professora Titular de Toxicologia e Farmacologia na Faculdade de Farmácia da PUCRS. Coordenadora de Programas Especiais da Pró-reitoria de Graduação da PUCRS.

Alice A. da Matta Chasin
Farmacêutica Bioquímica. Doutora em Toxicologia pela USP. Mestre em Análises Toxicológicas pela USP. Especialista em Análises de Drogas de abuso com título conferido pela ONU (Organização das Nações Unidas – Divisão de Narcóticos). Professora Titular de Toxicologia e Coordenadora do Curso de Ciências Toxicológicas e da Área de Saúde do Centro de Pós-graduação das Faculdades Oswaldo Cruz. Professora e Orientadora do Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da FCF/USP.

Versão impressa
desta obra: 2012

AMGH Editora Ltda.

2012

Obra originalmente publicada sob o título
Casarett & Doull's Essentials of Toxicology, 2nd Edition
ISBN 0071622403 / 9780071622400

Original edition copyright © 2010, The McGraw-Hill Companies, Inc., New York, New York 10020. All rights reserved.

Portuguese language translation copyright © 2012, AMGH Editora Ltda. All rights reserved.

Arte sobre a capa original: *VS Digital Ltda.*

Preparação de original: *Camila Heck*

Leitura final: *Cassiano Haag*

Editora responsável por esta obra: *Dieimi Deitos*

Coordenador editorial: *Alberto Schwanke*

Gerente editorial: *Letícia Bispo de Lima*

Editoração eletrônica: *Techbooks*

OBSERVAÇÃO

A Medicina é uma ciência em constante evolução. Conforme pesquisas e experiências clínicas ampliam os conhecimentos da área, alterações no tratamento e nos medicamentos são necessárias. Os autores e os editores desta obra buscaram fontes aceitas como confiáveis em um esforço para prover informações completas que estejam inteiramente de acordo com os padrões aceitos na data da publicação. Entretanto, em vista da possibilidade de erros humanos ou de alterações nas ciências médicas, nem os autores nem os editores e nenhum dos outros participantes envolvidos na preparação ou na publicação desta obra garantem que as informações nela contidas são acuradas ou completas e renunciam a toda a responsabilidade por quaisquer erros ou omissões ou pelos resultados obtidos pelo uso das informações contidas nesta obra. Os leitores são estimulados a confirmar as informações aqui contidas em outras fontes. Por exemplo, e em particular, os leitores são aconselhados a verificar a bula incluída na embalagem de cada medicamento que planejam administrar para ter certeza de que as informações contidas neste livro são precisas e que não foram feitas mudanças nas dosagens recomendadas ou nas contraindicações para a administração. Essa recomendação é especialmente importante em relação aos novos fármacos ou àqueles raramente utilizados.

Reservados todos os direitos de publicação, em língua portuguesa, à
AMGH EDITORA LTDA., uma parceria entre GRUPO A EDUCAÇÃO S.A. e McGRAW-HILL EDUCATION
Av. Jerônimo de Ornelas, 670 – Santana
90040-340 – Porto Alegre – RS
Fone: (51) 3027-7000 Fax: (51) 3027-7070

É proibida a duplicação ou reprodução deste volume, no todo ou em parte, sob quaisquer formas ou por quaisquer meios (eletrônico, mecânico, gravação, fotocópia, distribuição na Web e outros), sem permissão expressa da Editora.

Unidade São Paulo
Av. Embaixador Macedo Soares, 10.735 – Pavilhão 5 – Cond. Espace Center
Vila Anastácio – 05095-035 – São Paulo – SP
Fone: (11) 3665-1100 Fax: (11) 3667-1333

SAC 0800 703-3444 – www.grupoa.com.br

IMPRESSO NO BRASIL
PRINTED IN BRAZIL

Colaboradores

Michael Aschner, PhD
Gray E.B. Stahlman Chair in Neuroscience, Professor of Pediatrics and Pharmacology and Senior Investigator of the Kennedy Center, Vanderbilt University, Nashville, Tennessee

S. Satheesh Anand, PhD
Research Toxicologist, DuPont Haskell Laboratory for Health and Environmental Sciences, Newark, Delaware

John C. Bloom, VMD, PhD
Executive Director, Distinguished Medical Fellow, Diagnostic and Experimental Medicine, Eli Lilly and Company, Indianapolis, Indiana

William K. Boyes, PhD
Neurotoxicology Division National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Durham, North Carolina

John T. Brandt, MD
Medical Fellow II, Diagnostic and Experimental Medicine, Eli Lilly and Company, Indianapolis, Indiana

James V. Bruckner, PhD
Department of Pharmaceutical and Biomedical Sciences, College of Pharmacy, University of Georgia, Athens, Georgia

George A. Burdock, PhD, DABT, FACN
President, Burdock Group, Vero Beach, Florida

Louis R. Cantilena, Jr. MD, PhD
Professor of Medicine and Pharmacology, Director, Division of Clinical Pharmacology and Medical Toxicology, Uniformed Services University, Bethesda, Maryland

Charles C. Capen, DVM, MSc, PhD
Distinguished University Professor, The Ohio State University, Department of Veterinary Biosciences, Columbus, Ohio

Lucio G. Costa, PhD
Professor, Department of Environmental and Occupational Health Sciences, University of Washington, Seattle, Washington

Daniel L. Costa, ScD
National Program Director for Air Research, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina

Robert T. Di Giulio, PhD
Professor, Nicholas School of the Environment and Earth Sciences, Duke University, Durham, North Carolina

David L. Eaton, PhD
Professor of Environmental and Occupational Health Sciences and Public Health Genetics, School of Public Health and Community Medicine; and Associate Vice Provost for Research, University of Washington, Seattle, Washington

Elaine M. Faustman, PhD, DABT
Professor and Director, Institute for Risk Analysis and Risk Communication, Department of Environmental and Occupational Health Sciences, University of Washington, Seattle, Washington

Paul M.D. Foster, PhD
National Toxicology Program, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North Carolina

Donald A. Fox, PhD
Professor of Vision Sciences, Biology and Biochemistry, and Pharmacology, University of Houston, Houston, Texas

Michael A. Gallo, PhD
UMDNJ-Robert Wood Johnson Medical School, Piscataway, New Jersey

Steven G. Gilbert, PhD, DABT
Director, Institute of Neurotoxicology and Neurological Disorders (INND), Affiliate Associate Professor, Department of Environmental and Occupational Health Sciences, University of Washington, Seattle, Washington

Robert A. Goyer, MD
Professor Emeritus Department of Pathology, University of Western Ontario, London, Ontario, Canada

L. Earl Gray, Jr. PhD
NHEERL Reprotoxicology Division Endocrinology Branch, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina

Zoltán Gregus, MD, PhD, DSc, DABT
Department of Pharmacology and Therapeutics, Toxicology Section, University of Pécs, Medical School, Pécs, Hungary

Naomi H. Harley, PhD
New York University School of Medicine, Department of Environmental Medicine, New York, New York

George R. Hoffman, PhD
Professor, Department of Biology, College of Holy Cross, Worcester, Massachusetts

Michael P. Holsapple, PhD, FATS
Executive Director, ILSI Health and Environmental Sciences Institute (HESI), Washington, District of Columbia

Hartmut Jaeschke, PhD
Professor, Department of Pharmacology, Toxicology and Therapeutics, University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas

Lisa M. Kamendulis, PhD
Assistant Professor, Department of Pharmacology and Toxicology, Indiana University School of Medicine, Indianapolis, Indiana

Norbert E. Kaminski, PhD
Professor, Pharmacology & Toxicology, Director, Center for Integrative Toxicology, Michigan State University, East Lansing, Michigan

Y. James Kang, DVM, PhD, FATS
Professor, Departments of Medicine, and Pharmacology and Toxicology University of Louisville School of Medicine, Louisville, Kentucky

Barbara L. Faubert Kaplan, PhD
Assistant Professor, Center for Integrative Toxicology, Michigan State University, East Lansing, Michigan

Robert J. Kavlock, PhD
National Health and Environmental Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina

James E. Klaunig, PhD
Robert B. Forney Professor of Toxicology, Director, Center for Environmental Health, Associate Director, IU Cancer Center, School of Medicine, Indiana University, Indianapolis, Indiana

Frank N. Kostonis, PhD
Department of Food Microbiology and Toxicology, Food Research Institute, University of Wisconsin, Madison, Wisconsin

Jerold A. Last, PhD
Professor, Department of Pulmonary and Critical Care Medicine, University of California, Davis, California

Lois D. Lehman-McKeeman, PhD
Distinguished Research Fellow, Discovery Toxicology, Bristol-Myers Squibb Company, Princeton, New Jersey

Jie Liu, PhD
Staff Scientist, Inorganic Carcinogenesis, Laboratory of Comparative Carcinogenesis, National Cancer Institute at NIEHS, Research Triangle Park, North Carolina

Theodora M. Mauro, MD
Associate Professor in Residence and Vice Chairman, Department of Dermatology, University of California, San Francisco; and Service Chief, Department of Dermatology, VA Medical Center San Francisco, San Francisco, California

Virginia C. Moser, PhD, DABT
Toxicologist, Neurotoxicology Division, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina

Michael C. Newman, PhD
Professor of Marine Science, School of Marine Science, College of William and Mary, Gloucester Point, Virginia

Stata Norton, PhD
Emeritus Professor, Department of Pharmacology, Toxicology and Therapeutics, University of Kansas Medical Center, Kansas City, Kansas

Brian W. Ogilvie, BA
Director of Drug Interactions, XenoTech, LLC, Lenexa, Kansas

Gilbert S. Omenn, MD, PhD
Professor of Internal Medicine, Human Genetics, Public Health and Computational Biology, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan

Andrew Parkinson, PhD
Chief Executive Officer, XenoTech, LLC, Lenexa, Kansas

Martin A. Philbert, PhD
Professor and Senior Associate Dean for Research, University of Michigan School of Public Health, Ann Arbor, Michigan

Kent E. Pinkerton, PhD
Professor, Center for Health and the Environment, University of California, Davis, California

Alphonse Poklis, PhD
Professor of Pathology, Director of Toxicology, Department of Pathology, Virginia Commonwealth University, Richmond, Virginia

R. Julian Preston, PhD
Associate Director for Health, National Health and Environmental Effects Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina

Rudy J. Richardson, SD, DABT
Professor of Toxicology, Department of Environmental Health Sciences, School of Public Health, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan

Robert H. Rice, PhD
Professor, Department of Environmental Toxicology, University of California, Davis, Davis, California

John M. Rogers, PhD
Chief, Developmental Biology Branch, Reproductive Toxicology Division, National Health and Environmental Effects Research Laboratory, Office of Research and Development, U.S. Environmental Protection Agency, Research Triangle Park, North Carolina

Rick G. Schnellmann, PhD
Professor and Chair, Department of Pharmaceutical Sciences, Medical University of South Carolina, Charleston, South Carolina

Danny D. Shen, PhD
Professor, Department of Pharmacy and Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of Washington, Seattle, Washington

Peter S. Thorne, PhD
Professor and Director, Environmental Health Sciences Research Center, The University of Iowa, Iowa City, Iowa

Laura S. Van Winkle, PhD
Associate Adjunct Professor, Department of Anatomy, Physiology and Cell Biology, School of Veterinary Medicine; and Center for Health and the Environment, University of California at Davis, Davis, California

Michael P. Waalkes, PhD
Chief Inorganic Carcinogenesis Section, Laboratory of Comparative Carcinogenesis, National Cancer Institute at the National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, North Carolina

D. Alan Warren, MPH, PhD
Program Director, Environmental Health Science, University of South Carolina Beaufort, Beaufort, South Carolina

John B. Watkins III, PhD, DABT
Assistant Dean and Director, Professor of Pharmacology and Toxicology, Medical Sciences Program, Indiana University School of Medicine, Bloomington, Indiana

Hanspeter R. Witschi, MD, DABT, FATS
Professor of Toxicology, Institute of Toxicology and Environmental Health and Department of Molecular Biosciences, School of Veterinary Medicine, University of California, Davis, California

Tradutores

Adelaide José Vaz (*in memoriam)*
Farmacêutica Bioquímica. Livre docente na USP. Doutora em Imunologia pela USP. Professora Titular de Imunologia e Coordenadora do Curso de Análises Clínicas e Toxicológicas do Centro de Pós-graduação das Faculdades Oswaldo Cruz. Professora Titular de Imunologia da Universidade Paulista e Universidade São Judas Tadeu. Assessora técnico-científica do Laboratório do Departamento de Patologia Clínica do Hospital do Câncer da Fundação Antonio Prudente.

Alice A. da Matta Chasin
Farmacêutica Bioquímica. Especialista em Análises de Drogas de abuso com título conferido pela Organização das Nações Unidas (ONU) – Divisão de Narcóticos. Mestre em Análises Toxicológicas pela USP. Doutora em Toxicologia pela USP. Professora Titular de Toxicologia e Coordenadora do Curso de Ciências Toxicológicas e da Área de Saúde do Centro de Pós-graduação das Faculdades Oswaldo Cruz. Professora e Orientadora do Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF) – USP.

Aline de Conti
Farmacêutica. Pós-doutora em Ciências dos Alimentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Pesquisadora visitante do *National Center for Toxicological Research, Food and Drugs Administration*, EUA. Farmacêutica Industrial pela Faculdade Oswaldo Cruz.

Ana Leonor Pardo Campos Godoy
Farmacêutica Bioquímica. Mestre em Toxicologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Doutora em Ciências pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto. Pós-doutoranda em Farmacocinética Clínica pela USP.

Augusto Langeloh
Médico Veterinário. Doutor em Farmacologia pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Pós-doutor no Instituto de Farmacologia e Toxicologia da Universidade de Würzburg, RFA.

Carlos Augusto Mello da Silva
Professor de Farmacologia. Professor Titular de Toxicologia e Medicina de Emergência na Universidade de Caxias do Sul (UCS-RS). Médico do Centro de Informação Toxicológica (CIT/RS) – Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS) – Secretaria Estadual de Saúde de Porto Alegre – RS. Diretor da Toxikonsult, Consultoria Especializada em Toxicologia.

Carlos Eduardo Matos
Farmacêutico com atuação em Toxicologia. Analista de gerenciamento de risco toxicológico da InterTox, com ênfase em Toxicologia *Computacional & In Silico*, Toxicologia Ambiental e Cosmetotoxicologia.

Diogo Pineda Rivelli
Farmacêutico Bioquímico. Graduado pela Universidade de São Paulo na modalidade de Fármaco e Medicamentos. Doutor em Farmácia pela USP. Pós-doutorando da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo – Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.

Edna Maria Alvarez Leite
Farmacêutica Bioquímica. Mestre em Análises Toxicológicas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP. Doutora em Toxicologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas – USP. Pós-doutora em Toxicologia Ocupacional pela Université Catholic de Louvan – Bruxelas, Bélgica.

Eliane Dallegrave
Bióloga e Médica Veterinária. Especialista em Toxicologia Aplicada – PUCRS. Mestre em Ciências Veterinárias – UFRGS. Doutora em Ciências Veterinárias – UFRGS. Pós-doutora em Toxicologia – Universidade do Porto. Professora Adjunta de Toxicologia do Departamento de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal de Ciências Básicas da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Pesquisadora Colaboradora do Centro de Informação Toxicológica do Rio Grande do Sul (CIT/RS-FEPPS). Membro da Sociedade Brasileira de Toxicologia (SBTOX).

Elisabeth Nascimento
Toxicologista. Mestre em Análises Toxicológicas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ Universidade de São Paulo (USP). Doutora em Ciências dos Alimentos pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas/ USP. Professora Doutora de Toxicologia no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas/USP.

Erik Montagna
Farmacêutico. Mestre em Ciências Biológicas (Bioquímica) pela USP. Doutorando em Ciências Biológicas (Bioquímica) da USP. Professor da disciplina de Metodologia da Investigação Científica na Faculdade de Ciências Farmacêuticas das Faculdades Oswaldo Cruz. Pesquisador do Núcleo de Ensino e Pesquisa em Educação e Saúde na Faculdade de Medicina do ABC.

Fábio Bucaretchi
Médico. Mestre em Ciências Médicas pela Faculdade de Ciências Médicas (FCM) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP). Doutor em Saúde da Criança e do Adolescente pela UNICAMP. Professor assistente do Departamento de Pediatria da FCM/UNICAMP e Vice-coordenador do Centro de Controle de Intoxicações de Campinas, da FCM/ UNICAMP.

Fabriciano Pinheiro
Biomédico. Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela USP. Professor de Toxicologia e Coordenador do curso de Pós-graduação em Ciências Toxicológicas das Faculdades Oswaldo Cruz. Diretor de Gerenciamento de Risco Toxicológico da Intertox.

Fausto Antonio de Azevedo
Farmacêutico Bioquímico. Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela Universidade de São Paulo.

Flavia Thiesen
Farmacêutica Bioquímica. Especialista em Toxicologia Aplicada pela PUCRS. Mestre em Farmacologia pela Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA). Doutora em Ciências pela Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP). Professora Titular de Toxicologia e Farmacologia na Faculdade de Farmácia da PUCRS. Coordenadora de Programas Especiais da Pró-reitoria de Graduação da PUCRS.

Gisela de Aragão Umbuzeiro
Bióloga. Doutora em Genética e Biologia Molecular pela Universidade Estadual de Campinas. Professora Associada da Faculdade de Tecnologia da Unicamp.

Haroldo Wilson Moreira
Professor do Curso de Especialização em Hematologia na Universidade Federal de Goiânia (UFG). Professor do Curso de Especialização em Hematologia e em Análises Clínicas na Universidade de Cuiabá (UNIC). Doutor em Genética pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho.

Irene Videira de Lima
Mestre em Análises Toxicológicas pela Universidade de São Paulo (USP). Doutora em Toxicologia pela Universidade de São Paulo (USP). Professora de Toxicologia Geral e Toxicologia Analítica do Curso de Ciências Farmacêuticas do Centro de Estudos de Saúde Coletiva da Faculdade de Medicina do ABC. Professora do Curso de Pós-graduação em Análises Clínicas e Toxicológicas das Faculdades Oswaldo Cruz. Membro do corpo editorial da Revista Brasileira de Toxicologia.

José Luiz da Costa
Graduado em Farmácia Bioquímica pela Universidade Federal de Alfenas. Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela Universidade de São Paulo. Doutor em Química Analítica pelo Instituto de Química da Universidade de São Paulo.

Lolita Tsanaclis
Farmacêutica Bioquímica. Graduada em Farmácia e Bioquímica pela Universidade de São Paulo. Mestre em Análises Clínicas pela Universidade de São Paulo. Doutora em Farmacologia pela University of Wales, Reino Unido. Diretora (Associada) da *Cansford Laboratories Ltd e Cansford Associates Ltd* (Reino Unido). Diretora (Associada) da Chromatox Ltda. (Brasil).

Marcus Emmanuel Mamana da Matta
Engenheiro Ambiental. Especialista em Gestão Ambiental pela Faculdade de Saúde Pública da USP. Doutor em Ciência pelo Departamento de Patologia da Faculdade de Medicina da USP. Diretor de Ciência e Tecnologia da empresa de consultoria em toxicologia e saúde ambiental InterTox.

Maria de Fátima Pedrozo
Farmacêutica Bioquímica. Mestre em Análises Toxicológicas – FCF/USP. Doutora em Saúde Ambiental – FSP/USP. Professora adjunta de Toxicologia e Saúde Pública da Faculdade de Farmácia da Universidade Mackenzie. Perito Criminal do Núcleo de Análise Instrumental/IC-SP.

Maria Elisa Pereira Bastos de Siqueira
Doutora em Toxicologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Professora Titular da Universidade Federal de Alfenas.

Maurea Nicoletti Flynn
Bióloga. Especialista em Ecologia Populacional. Doutora em Oceanografia Biológica pela USP. Professora Especialista Visitante da Faculdade de Tecnologia da Unicamp. Diretora Científica da BioSensu – Consultoria Ecológica.

Maurício Yonamine
Farmacêutico Bioquímico. Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela USP. Doutor em Toxicologia pela USP. Professor Doutor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

Melissa Moreira Zanquetta
Bióloga. Pós-doutora pela Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Pós-doutora pela Baylor College of Medicine, EUA. Doutora em Ciências (Fisiologia Humana) pela Universidade de São Paulo. Consultora científica da Intertox.

Mirna Bainy Leal
Farmacêutica. Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFRGS. Doutora em Ciências Biológicas – Bioquímica pela UFRGS. Professora Adjunta IV de Farmacologia no Departamento de Farmacologia, ICBS, na UFRGS.

Mônica Maria Bastos Paoliello
Biomédica. Doutora em Saúde Coletiva pela Universidade Estadual de Campinas. Professora associada da Universidade Estadual de Londrina e na pós-graduação (Programa de Pós-graduação em Saúde Coletiva, docente permanente). Coordenadora do Curso de Mestrado Profissional em Toxicologia Aplicada à Vigilância Sanitária (UEL) para o corpo técnico da Anvisa. Consultor da Gerência Geral de Toxicologia da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa).

Myriam C. Salvadori
Farmacêutica Bioquímica. Mestre em Análises Toxicológicas pela FCF-USP. Doutora em Medicina Veterinária pela USP. Diretora do Departamento da Qualidade da MCM Análises Laboratoriais S.A.

Rafael Lanaro
Farmacêutico Bioquímico. Especialista em Toxicologia Analítica pela Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela USP. Farmacêutico do Laboratório de Toxicologia do Centro de Controle de Intoxicações da Unicamp. Supervisor do Programa de Aprimoramento em Toxicologia Analítica da Unicamp.

Rafael Linden
Farmacêutico. Mestre em Ciências Farmacêuticas pela UFRGS. Doutor em Biologia Celular e Molecular pela PUCRS. Professor Titular da Universidade Feevale.

Sandra Helena Poliselli Farsky
Farmacêutica industrial. Doutora em Farmacologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Professora Titular no Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Coordenadora do Programa de Pós-graduação em Toxicologia e Análises Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

Silvia Berlanga de Moraes Barros
Farmacêutica Bioquímica. Doutora em Toxicologia pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Professora titular aposentada do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Silvia de Oliveira Cazenave
Farmacêutica Bioquímica. Especialista em Análises de Drogas de Abuso com título conferido pela Organização das Nações Unidas (ONU) – Divisão de Narcóticos. Mestre em Análises Toxicológicas pela Universidade de São Paulo. Doutora em Toxicologia pela Universidade de São Paulo. Professora Titular de Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da PUC de Campinas e Perita Criminal de Toxicologia do Instituto de Criminalística de Campinas-SP.

Silvia Regina Batistuzzo de Medeiros
Bióloga. Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Doutora em Biologia Molecular pela Université de Lausanne, na Suíça. Professora titular da Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

Solange Cristina Garcia
Professora de Toxicologia da UFRGS. Doutora em Farmácia pela Universidade Heinrich-Heine (Düsseldorf – Alemanha). Pesquisadora Orientadora do PPGCF-UFRGS e do PPG – Fundação Universitária de Cardiologia.

Sueli Moreira de Mello
Farmacêutica. Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela Universidade de São Paulo. Supervisora do Laboratório de Toxicologia do Centro de Controle de Intoxicações da Universidade Estadual de Campinas.

Tânia Cristina Higashi Sawada
Farmacêutica Bioquímica. Mestre em Farmácia, na área de Toxicologia e Análises Toxicológicas pela USP. Doutora em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela USP.

Thais Reis Machado
Formada em Farmácia e Bioquímica pela Universidade de Guarulhos. Formada em Engenharia Química pela Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. Professora associada do curso de Pós-graduação em Gestão Industrial Farmacêutica das Faculdades Oswaldo Cruz.

Vera Lucia Lanchote
Farmacêutica Bioquímica. Mestre em Toxicologia e Análises Toxicológicas pela USP. Doutora em Farmácia e Bioquímica pela USP. Professora Titular pelo Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP. Titular em Toxicologia pela USP. Livre docente em Toxicologia pela USP.

Prefácio

Estamos muito satisfeitos em apresentar esta edição atualizada e colorida de *Fundamentos em Toxicologia*, reunindo os grandes princípios e conceitos da toxicologia que foram descritos em detalhes na sétima edição de *Toxicologia Casarett & Doull's: A Ciência Básica de Venenos*. Agradecemos aos colegas que contribuíram com esta última edição. Suas contribuições serviram como base para os capítulos deste livro.

Esta obra apresenta de modo conciso a ampla ciência da toxicologia. Conceitos importantes de anatomia, fisiologia e bioquímica foram incluídos para facilitar a compreensão dos princípios e mecanismos de ação tóxica sobre os sistemas de órgãos específicos. Esperamos que o livro seja útil para estudantes em cursos de graduação e pós-graduação em toxicologia, bem como para estudantes de outras disciplinas que desejam uma base sólida em conceitos e princípios toxicológicos.

O livro está organizado em sete unidades: (1) Princípios gerais da toxicologia; (2) Disposição de toxicantes; (3) Toxicidade não dirigida a órgãos específicos; (4) Toxicidade órgão-alvo; (5) Agentes tóxicos; (6) Toxicologia ambiental; e (7) Áreas de aplicação toxicologia. Um resumo dos pontos-chave é incluído no início de cada capítulo, e, ao final, um conjunto de questões de revisão é apresentado.

Convidamos os leitores a enviar suas sugestões como forma de melhorar esta obra, e agradecemos as sugestões que recebemos na última edição. Agradecemos a todos que estiveram envolvidos neste projeto. Nosso sincero agradecimento a nossas famílias pelo amor, pela paciência e pelo apoio concedidos durante a preparação deste livro. Agradecemos a inestimável ajuda que Ronnie Hamrick, Greg Dowling, Todd Dejulio e Ruth Sanders prestaram neste projeto. Os conselhos, a orientação e a assistência da equipe da McGraw-Hill são reconhecidos e agradecidos. Finalmente, agradecemos aos nossos alunos pelo entusiasmo em aprender e pelo que nos ensinaram durante seu tempo conosco.

Curtis D. Klaassen
John B. Watkins III

Sumário

UNIDADE I

PRINCÍPIOS GERAIS DA TOXICOLOGIA 1

1 **História e Abrangência da Toxicologia 1**
Michael A. Gallo

2 **Princípios de Toxicologia 5**
David L. Eaton e Steven G. Gilbert

3 **Mecanismos de Toxicidade 21**
Zoltán Gregus

4 **Avaliação do Risco 47**
Elaine M. Faustman e Gilbert S. Omenn

UNIDADE II

DISPOSIÇÃO DE TOXICANTES 57

5 **Absorção, Distribuição e Excreção de Toxicantes 57**
Lois D. Lehman-McKeeman

6 **Biotransformação de Xenobióticos 71**
Andrew Parkinson e Brian W. Ogilvie

7 **Toxicocinética 99**
Danny D. Shen

UNIDADE III

TOXICIDADE NONORGAN – TOXICIDADE NÃO DIRIGIDA A ÓRGÃOS ESPECÍFICOS 109

8 **Carcinogênese Química 109**
James E. Klaunig e Lisa M. Kamendulis

9 **Toxicologia Genética 123**
R. Julian Preston e George R. Hoffmann

10 **Toxicologia do Desenvolvimento 137**
John M. Rogers e Robert J. Kavlock

UNIDADE IV

TOXICIDADE ÓRGÃO-ALVO 149

11 **Respostas Tóxicas do Sangue 149**
John C. Bloom e John T. Brandt

12 **Imunotoxicologia 163**
Norbert E. Kaminski, Barbara L. Faubert Kaplan e Michael P. Holsapple

13 **Toxicidade Hepática pela Exposição a Xenobióticos 179**
Hartmut Jaeschke

14 **Reações Tóxicas dos Rins 193**
Rick G. Schnellmann

15 **Respostas Tóxicas do Sistema Respiratório 205**
Hanspeter R. Witschi, Kent E. Pinkerton, Laura S. Van Winkle e Jerold A. Last

16 **Respostas Tóxicas do Sistema Nervoso 219**
Virginia C. Moser, Michael Aschner, Rudy J. Richardson e Martin A. Philbert

17 **Respostas Tóxicas do Sistema Ocular e Visual 235**
Donald A. Fox e William K. Boyes

18 **Respostas Tóxicas do Coração e do Sistema Vascular 249**
Y. James Kang

19 **Respostas Tóxicas da Pele 269**
Robert H. Rice e Theodora M. Mauro

20 **Efeitos Tóxicos Sobre o Sistema Reprodutivo 281**
Paul M.D. Foster e L. Earl Gray Jr.

21 **Respostas Tóxicas do Sistema Endócrino 295**
Charles C. Capen

UNIDADE V

AGENTES TÓXICOS 311

22 **Efeitos Tóxicos dos Praguicidas 311**
Lucio G. Costa

23 **Efeitos Tóxicos dos Metais 325**
Jie Liu, Robert A. Goyer e Michael P. Waalkes

24 **Efeitos Tóxicos de Solventes e Vapores 337**
James V. Bruckner, S. Satheesh Anand e D. Alan Warren

25 **Efeitos Tóxicos da Radiação e de Materiais Radioativos 349**
Naomi H. Harley

26 **Efeitos Tóxicos de Venenos de Animais Terrestres e Envenenamentos 361**
John B. Watkins III

27 **Efeitos Tóxicos de Plantas, Fungos e Algas 371**
Stata Norton

UNIDADE VI

TOXICOLOGIA AMBIENTAL 379

28 **Poluição do Ar 379**
Daniel L. Costa

29 **Ecotoxicologia 391**
Richard T. Di Giulio e Michael C. Newman

UNIDADE VII

ÁREAS DE APLICAÇÃO DA TOXICOLOGIA 401

30 **Toxicologia Aplicada a Alimentos 401**
Frank N. Kotsonis e George A. Burdock

31 **Toxicologia Analítica e Forense 411**
Alphonse Poklis

32 **Toxicologia Clínica 419**
Louis R. Cantilena Jr.

33 **Toxicologia Ocupacional 429**
Peter S. Thorne

Respostas às Questões dos Capítulos 439

Índice 443

UNIDADE I PRINCÍPIOS GERAIS DA TOXICOLOGIA

CAPÍTULO 1

História e Abrangência da Toxicologia

Michael A. Gallo

HISTÓRIA DA TOXICOLOGIA

- Antiguidade
- Idade Média
- Renascimento
- Iluminismo

TOXICOLOGIA MODERNA

APÓS A 2ª GUERRA MUNDIAL

PONTOS-CHAVE

- Toxicologia é o estudo dos efeitos adversos dos xenobióticos nos sistemas biológicos.
- A toxicologia incorpora o conhecimento e as técnicas de bioquímica, biologia, química, genética, matemática, medicina, farmacologia, fisiologia e física.
- Aplicação da toxicologia à avaliação da segurança e do risco químico.*

HISTÓRIA DA TOXICOLOGIA

A toxicologia moderna vai além do estudo dos efeitos adversos dos agentes exógenos por incorporar conhecimentos e técnicas de bioquímica molecular, biologia, química, genética, matemática, medicina, farmacologia, fisiologia e física e aplicação da disciplina à avaliação da segurança e do risco químico. Em todos os ramos da toxicologia, cientistas exploram os mecanismos pelos quais as substâncias químicas produzem efeitos adversos nos sistemas biológicos. As atividades nesses temas, tão amplos, complementam a pesquisa toxicológica, contribuindo, assim, para a aplicação desses saberes para a ciência e a arte da toxicologia.

Antiguidade

O conhecimento dos venenos animais e extratos vegetais para caça, guerra e assassinatos é, presumivelmente, anterior à história escrita. Um dos documentos mais antigos conhecidos,

* N. de T.: O termo *risco químico* foi utilizado na tradução do termo *risk*, do original.

o Papiro de Ebers (cerca de 1500 a.C.), contém informações relativas a muitos venenos conhecidos, incluindo cicuta, acônito, ópio e metais como chumbo, cobre e antimônio. O *Livro de Jó* (cerca de 1400 a.C.) fala de flechas envenenadas (Jó 6:4), e Hipócrates (cerca de 400 a.C.) postulou princípios de toxicologia clínica referentes a biodisponibilidade em terapia e sobredosagem e acrescentou o conhecimento de uma série de venenos. Teofrasto (370-286 a.C.), um discípulo de Aristóteles, incluiu numerosas referências sobre plantas venenosas em *De Historia Plantarum*. Dioscórides, um médico grego da corte do imperador romano Nero, elaborou a primeira tentativa de classificação de venenos nos reinos vegetal, animal e mineral em seu livro *De Materia Medica*, que reúne referências de cerca de 600 plantas.

Conta a lenda a história do rei romano Mitrídates VI, que, de tão temeroso que era de ser envenenado, ingeria regularmente uma mistura de 36 ingredientes como proteção contra esse tipo de assassinato. Por ocasião da sua captura iminente por inimigos, suas tentativas de suicídio com veneno falharam devido às características antidotais de sua mistura. Esse conto explica o uso da palavra *mitridato** como um antídoto ou uma mistura de proteção. Em razão de os envenenamentos terem se tornado tão frequentes nos crimes políticos, Sulla emitiu o *Lex Cornelia* (cerca de 82 a.C.), que parece ser o primeiro diploma regulamentar dirigido aos displicentes dispensadores** de medicamentos.

Idade média

Os escritos de Maimônides (Moses ben Maimon, 1135-1204 d.C.) incluíram um tratado sobre o tratamento de intoxicações por insetos, cobras e cachorros loucos (*Poisons and their Antidotes*, 1198). Maimônides descreveu o fenômeno da biodisponibilidade, observando que o leite, a manteiga e o creme de leite podem retardar a absorção intestinal. No início do Renascimento, e, sob o pretexto de entregar forragem para os pobres e doentes, Catarina de Médici testava misturas tóxicas, observando atentamente a rapidez da resposta tóxica (início da ação), a eficácia do composto (potência), o grau de resposta das partes do corpo (especificidade e local de ação) e as queixas da vítima (sinais e sintomas clínicos).

Renascimento

Todas as substâncias são venenos; não há nenhuma que não seja um veneno. A dose correta distingue o veneno do remédio.

Paracelso

Philippus Aureolus Theophrastus Bombastus von Hohenheim– Paracelso (1493-1541) foi personagem de suma importância. Situado entre a filosofia e magia da antiguidade clássica e a filosofia e a ciência, é personagem clássico e querido dentre as figuras dos séculos XVII e XVIII. Paracelso, um médico-alquimista, formulou muitos pontos de vista revolucionários que permanecem integrais na atual estrutura da toxicologia, da farmacologia e da terapêutica. Ele considerou o agente tóxico primário como uma entidade química e que (1) a experimentação é essencial na análise de respostas a substâncias químicas; (2) deve-se fazer uma distinção entre as propriedades terapêuticas e tóxicas das substâncias químicas; (3) essas propriedades são, por vezes, mas nem sempre, indistinguíveis, exceto pela dose; e (4) pode-se verificar o grau de especificidade dos agentes e seus efeitos terapêuticos ou tóxicos. Esses princípios permitiram a Paracelso formular o conceito da "relação dose-resposta", um alicerce da toxicologia.

Come bitter pilot, now at once run on
The dashing rocks thy seasick weary bark!
Here's to my love! O true apothecary!
Thy drugs are quick. Thus with a kiss I die.
"[Oh tu, piloto desesperado! Lança de um só golpe contra a rocha escarpada teu barquinho tão cansado da viagem trabalhosa. Eis para meu amor.
Oh, honesto boticário! Tuas drogas são rápidas. Assim morro com um beijo]"

Romeu e Julieta, ato 5, cena 3

Embora Ellenbog (por volta de 1480) tenha alertado sobre a toxicidade do mercúrio e do chumbo na ourivesaria e Agricola tenha publicado um breve tratado sobre as doenças de mineração em 1556, a maior obra sobre o assunto, *Doenças das minas e outras doenças dos mineiros* (1567), foi publicada por Paracelso. Esse tratado versava sobre a etiologia da doença de mineiros, tratamentos e estratégias de prevenção. A toxicologia ocupacional avançou com o trabalho de Bernardino Ramazzini, que publicou, em 1700, o *Discurso sobre as doenças dos trabalhadores*, que discutia profissões que iam dos mineiros às parteiras, incluindo tipógrafos, tecelões e oleiros. Percival Pott (1775) reconheceu o papel da fuligem no câncer escrotal entre limpadores de chaminé, sendo este o primeiro relato acerca da carcinogênese dos hidrocarbonetos poliaromáticos. Tais descobertas possibilitaram o desenvolvimento de práticas médicas, em especial na prevenção.

Iluminismo

A toxicologia experimental acompanhou o crescimento da química orgânica e desenvolveu-se rapidamente durante o século XIX. Magendie (1783-1885), Orfila (1787-1853) e Bernard (1813-1878) lançaram as bases para a farmacologia, a terapêutica experimental e a toxicologia ocupacional.

Orfila, um médico espanhol na corte francesa, usou material de autópsia e análises químicas de forma sistemática como prova legal de envenenamento. A introdução desse tipo de análise sobrevive como preceito básico da toxicologia forense. Orfila, em 1815, publicou um importante trabalho dedicado expressamente à toxicidade de agentes naturais. Magendie, um médico e fisiologista experimental, estudou os mecanismos de ação de emetina e estricnina. Sua pesquisa envolveu a absorção e distribuição desses compostos no organismo. O mais famoso aluno de Magendie, Claude Bernard, contribuiu com o clássico tratado *Uma introdução ao estudo da medicina experimental.*

Os cientistas alemães Oswald Schmiedeberg (1838-1921) e Louis Lewin (1850-1929) contribuiram muito para a ciência da toxicologia. Schmiedeberg formou cerca de 120 alunos que, mais tarde, ocuparam cargos nos mais importantes laboratórios de farmacologia e toxicologia ao redor do mundo. Lewin publicou grande parte dos trabalhos iniciais sobre a toxicidade dos narcóticos, metanol, glicerol, acroleína e clorofórmio.

* N. de T.: Mitridato: Na farmacopeia antiga, contraveneno.

** N. de T.: Espécie de boticário.

TOXICOLOGIA MODERNA

A força e a diversidade da toxicologia vêm de sua capacidade de incorporar quase todas as ciências básicas para testar suas hipóteses. Esse fato, com os regulamentos ocupacionais e da saúde, que têm impulsionado a pesquisa toxicológica desde 1900, fizeram a toxicologia tornar-se excepcional na história da ciência.

Com o advento dos anestésicos e desinfetantes no fim dos anos de 1850, teve início a toxicologia, como é atualmente entendida. Naquele período, era frequente o uso de medicamentos em fase de "patente", o que provocou vários incidentes de intoxicações por esses medicamentos, que, quando combinados com a resposta à exposição de Upton Sinclair sobre a indústria de carne enlatada em *A Selva*, culminou na promulgação da Lei Wiley Bill, em 1906, a primeira de muitas sobre alimentos e medicamentos dos Estados Unidos (EUA).

Durante os anos de 1890 e início da década de 1900, a descoberta da radioatividade e das vitaminas, ou "aminas vitais", levou, pela primeira vez, ao uso de bioensaios em grande escala (múltiplos estudos com animais) para determinar se esses "novos" produtos químicos eram benéficos ou perigosos a animais de laboratório.

Uma das primeiras revistas expressamente dedicada à toxicologia experimental foi a *Archiv für Toxikologie*, cuja publicação começou na Europa, em 1930. Nesse mesmo ano, o *National Institutes of Health* (NIH) foi criado nos Estados Unidos. Como resposta às trágicas consequências da insuficiência renal aguda verificada após a utilização da sulfanilamida em soluções de glicol, foi aprovado, em 1938, o projeto de lei Copeland. Esse foi o segundo projeto de lei envolvido na formação da Food and Drug Administration (FDA). O primeiro ato importante sobre praguicidas foi assinado em 1947. A importância desse ato federal sobre inseticidas, fungicidas e rodenticidas foi a de que, pela primeira vez na história dos EUA, uma substância que não era nem medicamento nem alimento necessitava mostrar segurança e eficácia.

APÓS A 2ª GUERRA MUNDIAL

Você também pode ser um toxicologista com apenas duas simples lições, cada uma com duração de dez anos.

Arnold Lehman (por volta de 1955)

A década de 1950 testemunhou o fortalecimento da FDA em seu comprometimento com a toxicologia. O congresso americano aprovou, e o presidente dos Estados Unidos sancionou emendas aditivas para a Lei de Alimentos, Medicamentos e Cosméticos. Uma delas, a cláusula Delaney (1958), estabeleceu que qualquer produto químico considerado cancerígeno em animais de laboratório ou em humanos não poderia ser adicionado aos alimentos nos EUA. Delaney tornou-se um grito de guerra para muitos grupos e resultou na inclusão de modelos estatísticos e matemáticos no campo da toxicologia. Pouco tempo após a emenda Delaney, foi lançada a primeira revista americana dedicada à toxicologia, a *Toxicology and Applied Pharmacology*, e, na sequência, fundada a Sociedade de Toxicologia dos EUA.

A década de 1960 começou com o trágico incidente da talidomida, que provocou o nascimento de milhares de crianças com sérios defeitos congênitos e a publicação do livro *Primavera silenciosa* (1962), de Rachel Carson. Ganharam, então, impulsos as tentativas de entender os efeitos dos produtos químicos sobre o embrião e o feto e sobre o meio ambiente como um todo. Uma nova legislação foi aprovada, e novas revistas foram fundadas. A toxicologia celular e molecular desenvolveu-se, então, como uma subdisciplina, e a avaliação de risco tornou-se o principal objetivo das investigações toxicológicas.

Hoje, centenas de profissionais, organizações governamentais e outras organizações científicas praticam a toxicologia, e há mais de 120 revistas científicas a ela dedicadas e disciplinas relacionadas. Além disso, o Congresso Internacional de Toxicologia é composto por sociedades de toxicologia da Europa, América do Sul, Ásia, África e Austrália, reunido ampla representação de toxicologistas de todo o mundo.

A história da toxicologia é interessante e variada. Por ser uma ciência que se desenvolveu por meio da efetiva transdisciplinaridade, não apresenta um objetivo único. Essa diversificação permitiu o aporte de ideias e conceitos egressos do meio acadêmico, da indústria e do governo. O resultado dessa diversidade é o desenvolvimento de um conhecimento que serve à ciência e à comunidade em geral. Poucas disciplinas podem destinar-se, simultaneamente, para as ciências básicas e para aplicações diretas. A toxicologia – o estudo dos efeitos adversos dos xenobióticos – pode ser única nesse aspecto.

REFERÊNCIAS

Bryan CP: *The Papyrus Ebers.* London: Geoffrey Bales, 1930.

Carson R: *Silent Spring.* Boston: Houghton Mifflin, 1962.

Gunther RT: *The Greek Herbal of Dioscorides.* New York: Oxford University Press, 1934.

Guthrie DA: *A History of Medicine.* Philadelphia: Lippincott, 1946.

Hays HW: *Society of Toxicology History,* 1961-1986. Washington, DC: Society of Toxicology, 1986.

Munter S (ed): *Treatise on Poisons and their Antidotes. Vol. II of the Medical Writings of Moses Maimonides.* Philadelphia: Lippincott, 1966.

Pagel W: *Paracelsus: An Introduction to Philosophical Medicine in the Era of the Renaissance.* New York: Karger, 1958.

Thompson CJ'S: *Poisons and Poisoners: With Historical Accounts of Some Famous Mysteries in Ancient and Modern Times.* London: Shaylor, 1931.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes afirmações a respeito da toxicologia é verdadeira?
   a. A toxicologia moderna se preocupa com o estudo dos efeitos adversos dos produtos químicos na formas primitivas de vida.
   b. Os estudos modernos de toxicologia incorporam princípios de disciplinas como botânica, bioquímica, química, fisiologia e física.
   c. A toxicologia moderna tem suas raízes no conhecimento de venenos de plantas e animais, o qual antecede a história escrita, e tem sido usada para promover a paz.
   d. A toxicologia moderna estuda os mecanismos pelos quais os produtos químicos inorgânicos produzem tanto efeitos desejados quanto deletérios.
   e. A toxicologia moderna se preocupa com o estudo de produtos químicos em mamíferos.

2. Onde o conhecimento da toxicologia dos agentes tóxicos foi primeiro publicado?
   a. Papiro de Ebers
   b. *De Historia Plantarum*
   c. *De Materia Medica*
   d. *Lex Cornelia*
   e. *Venenos e seus antídotos*

3. Paracelso, um médico-alquimista, formulou muitos pontos de vista revolucionários que permanecem integrais na atual estrutura da toxicologia, da farmacologia e da terapêutica. Ele considerou o agente tóxico primário como uma entidade química e determinante da relação dose-resposta. Qual das seguintes afirmações não é atribuível a Paracelso?
   a. Os venenos naturais apresentam rápido início de ação.
   b. A experimentação é essencial na análise de respostas a substâncias químicas.
   c. Pode-se fazer distinção entre as propriedades terapêuticas e tóxicas dos produtos químicos.
   d. Essas propriedades são, por vezes, mas, nem sempre, indistinguíveis, exceto pela dose.
   e. Pode-se verificar o grau de especificidade dos agentes e seus efeitos terapêuticos ou tóxicos.

4. A arte do aprendizado da toxicologia requer anos de experiência, mesmo que a base de conhecimento de fatos possa ser aprendida mais rapidamente. A qual toxicologista é creditada a frase "Você pode ser um toxicologista com apenas duas simples lições, cada uma com duração de dez anos".
   a. Claude Bernard
   b. Rachel Carson
   c. Upton Sinclair
   d. Arnold Lehman
   e. Oswald Schmiedeberg

5. Quais das seguintes afirmações é correta?
   a. Claude Bernard foi um cientista prolífico que formou cerca de 120 alunos e que publicou numerosas contribuições à literatura científica.
   b. Louis Lewin, aluno de Oswald Schmiedeberg, publicou grande parte dos trabalhos iniciais sobre a toxicidade dos narcóticos, metanol, glicerol, acroleína e clorofórmio.
   c. A obra Uma *introdução ao estudo da medicina experimental* foi escrita pelo médico espanhol Orfila.
   d. Magendie usou material de autópsia e análises químicas de forma sistemática como prova legal de envenenamento.
   e. Percival Potts foi de fundamental importância ao demonstrar a complexidade química dos venenos de cobra.

CAPÍTULO

2

Princípios de Toxicologia

David L. Eaton e Steven G. Gilbert

INTRODUÇÃO À TOXICOLOGIA
- Diferentes áreas da toxicologia
- Toxicologia e sociedade
- Características gerais da resposta tóxica

CLASSIFICAÇÃO DOS AGENTES TÓXICOS

ESPECTRO DE EFEITOS INDESEJÁVEIS
- Reações alérgicas
- Reações idiossincráticas
- Toxicidade imediata *versus* retardada
- Efeitos tóxicos reversíveis *versus* irreversíveis
- Toxicidade local *versus* sistêmica
- Interação de substâncias químicas
- Tolerância

CARACTERÍSTICAS DE EXPOSIÇÃO
- Vias e locais de exposição
- Duração e frequência de exposição

DOSE-RESPOSTA
- Relações dose-resposta individual ou graduada
- Relação dose-resposta quantal
- Formas da curva dose-resposta
- Nutrientes essenciais
- *Hormesis*
- Limites
- Hipóteses na derivação da relação dose-resposta
- Avaliação da relação dose-resposta
  - Comparação de dose-resposta
  - Índice terapêutico
  - Margens de segurança e de exposição
  - Potência *versus* eficácia

VARIAÇÃO DAS RESPOSTAS TÓXICAS
- Toxicidade seletiva
- Espécies diferentes
- Diferenças individuais na resposta

TESTES DE TOXICIDADE DESCRITIVA EM ANIMAIS
- Letalidade aguda
- Irritação dérmica e ocular
- Sensibilização
- Ensaios subagudos (estudos de doses repetidas)
- Ensaios subcrônicos
- Ensaios crônicos
- Outros testes

TOXICOGENÔMICA

PONTOS-CHAVE

- Um *veneno* é qualquer agente capaz de produzir uma resposta prejudicial em um sistema biológico.
- Um *toxicologista mecanicista* identifica os mecanismos celulares, bioquímicos e moleculares pelos quais as substâncias químicas exercem efeitos tóxicos sobre os organismos vivos.
- *A toxicogenômica* permite a toxicologistas mecanicistas identificar e proteger indivíduos geneticamente suscetíveis a exposições ambientais prejudiciais e personalizar o tratamento farmacológico com base em sua composição genética individual.
- O *toxicologista descritivo* preocupa-se diretamente com os testes de toxicidade, que fornecem informações sobre a segurança e os requisitos regulatórios.
- O *toxicologista regulatório* determina, a partir dos dados disponíveis, se um produto químico representa um risco suficientemente baixo para ser comercializado com efeitos previsíveis. Além disso, o profissional estabelece padrões para a quantidade de produtos químicos permitidos no ar ambiental, em atmosferas industriais e na água potável.
- *Toxicidade seletiva* significa que uma substância química produz lesão em um tipo de matéria viva sem prejudicar outra forma de vida, mesmo que as duas entrem em contato íntimo.
- A relação dose-resposta, individual ou "graduada", descreve a resposta de um organismo *individual* a doses variadas de um produto químico.
- Uma relação dose-resposta quantal caracteriza a distribuição das respostas de diferentes doses em uma *população*.
- *Hormesis* é uma curva dose-resposta na forma de "U". Ocorre com alguns xenobióticos cujos efeitos são benéficos ou estimulantes em doses baixas, mas adversos em doses elevadas.
- Testes de toxicidade descritiva em animais assumem que os efeitos produzidos por um composto em animais de laboratório, quando devidamente qualificados, são aplicáveis a seres humanos, e que a exposição de animais de experimentação a agentes tóxicos em altas doses é um método necessário e válido para a descoberta de possíveis riscos a seres humanos.

INTRODUÇÃO À TOXICOLOGIA

Toxicologia é o estudo dos efeitos adversos das substâncias químicas sobre organismos vivos. O *toxicologista* é treinado para examinar a natureza desses efeitos (incluindo os mecanismos de ação bioquímicos, celulares e moleculares) e avaliar a probabilidade de sua ocorrência.

Diferentes áreas da toxicologia

O *toxicologista mecanicista* identifica os mecanismos bioquímicos, celulares e moleculares pelos quais as substâncias químicas exercem efeitos tóxicos sobre organismos vivos (ver Cap. 3 para uma discussão detalhada dos mecanismos de toxicidade). Dados mecanicistas podem ser úteis na concepção e na produção de produtos químicos mais seguros, bem como na terapia racional de envenenamento por produtos químicos e no tratamento de doenças. Na avaliação dos riscos, os dados mecanicistas podem ser muito úteis para demonstrar que um resultado adverso observado em animais de laboratório é diretamente relevante para seres humanos. A *toxicogenômica* permite a toxicologistas mecanicistas identificar e proteger indivíduos que são geneticamente suscetíveis a exposições ambientais nocivas e personalizar terapias farmacológicas com base na composição genética individual desses sujeitos. Numerosos testes genéticos podem identificar, com antecedência, indivíduos suscetíveis ao tratamento farmacológico.

O *toxicologista descritivo* preocupa-se com os testes de toxicidade, que fornecem informações para avaliação da segurança e dos requisitos regulamentares. Os testes de toxicidade (descritos mais adiante neste capítulo) em animais de laboratório são projetados para produzir informações que podem ser utilizadas para avaliar riscos para os seres humanos e para o meio ambiente por meio da exposição a substâncias químicas específicas.

O *toxicologista que delibera sobre a questão regulatória* tem a responsabilidade de decidir, com base nos dados fornecidos pelos toxicologistas descritivos e mecanicistas, se um medicamento ou outro produto químico representa um risco suficientemente baixo para ser comercializado com efeitos previsíveis. Os toxicologistas da regulamentação estão envolvidos no estabelecimento de normas para a quantidade de produtos químicos permitidos em alimentos, medicamentos, ar ambiente, atmosferas industriais e água potável (ver Cap. 4).

A *toxicologia forense* é um híbrido de química analítica e de princípios fundamentais de toxicologia. Ela incide essencialmente sobre os aspectos médico-legais dos efeitos nocivos de produtos químicos sobre humanos e animais (ver Cap. 31).

A *toxicologia clínica* preocupa-se com a doença causada ou exclusivamente associada com substâncias tóxicas (ver Cap. 32). A *toxicologia ambiental* incide sobre os impactos dos poluentes químicos no ambiente de organismos biológicos, estudando, em especial, o impacto dos produtos químicos em organismos não humanos, como peixes, aves, animais terrestres e plantas. A *ecotoxicologia*, uma área especializada da toxicologia ambiental, centra-se especificamente no impacto de substâncias tóxicas na população dinâmica de um ecossistema (ver Cap. 29).

A *toxicologia do desenvolvimento* estuda os efeitos adversos sobre organismos em desenvolvimento que podem resultar da exposição a agentes químicos ou físicos antes da concepção (pai ou mãe), durante o desenvolvimento pré-natal ou após o nascimento até a época da puberdade. *Teratologia* é o estudo dos defeitos induzidos ou produzidos durante o desenvolvimento entre a concepção e o nascimento (ver Cap. 10).

A *toxicologia reprodutiva* estuda a ocorrência de efeitos adversos no sistema reprodutivo masculino ou feminino que possam resultar da exposição a agentes químicos ou físicos (ver Cap. 20).

Toxicologia e sociedade

O conhecimento sobre os efeitos toxicológicos de um composto afeta os produtos de consumo, medicamentos, os processos de fabricação, a limpeza de resíduos, as medidas de regulamentação, os conflitos civis e as decisões políticas em geral. A toxicologia é cada vez mais influente em questões sociais, com responsabilidades cada vez maiores nas implicações éticas, legais e sociais nas pesquisas e nos testes toxicológicos.

A convergência dos vários elementos da toxicologia tem destacado as seguintes éticas dinâmicas: primeiro, a experiência e as novas descobertas das ciências biológicas têm enfatizado a necessidade de uma visão bem articulada da saúde ambiental, animal e humana; em segundo lugar, a experiência com consequências à saúde decorrentes da exposição a elementos como o chumbo, o amianto e o tabaco resultaram em ações regulatórias e legais e decisões políticas. Terceiro, temos um quadro cada vez mais bem definido para a discussão de nossas responsabilidades sociais e éticas. Em quarto lugar, todas as pesquisas envolvendo seres humanos ou animais devem ser conduzidas de forma responsável e ética. Em quinto lugar, a incerteza e a variabilidade biológica inerente às ciências biológicas requerem a tomada de decisões com informações limitadas ou incertas. E, por fim, os indivíduos envolvidos na pesquisa toxicológica devem aderir aos mais altos padrões éticos da profissão.

Características gerais da resposta tóxica

Pode-se definir um veneno como um agente capaz de produzir uma resposta prejudicial em um sistema biológico. Praticamente todas as substâncias químicas conhecidas têm o potencial de produzir lesão ou morte caso estejam presentes em quantidade suficiente. A Tabela 2.1 mostra a dosagem de produtos químicos necessária para produzir a morte de 50% dos animais tratados (DL_{50})*. É necessário perceber que as medidas de letalidade aguda, como DL_{50}, podem não refletir o espectro de toxicidade ou o perigo associados à exposição a uma substância química. Alguns produtos químicos com baixa toxicidade aguda, por exemplo, podem ter efeitos cancerígenos ou teratogênicos em doses que não produzem nenhuma evidência de toxicidade aguda.

CLASSIFICAÇÃO DOS AGENTES TÓXICOS

Agentes tóxicos são classificados em função dos interesses e das necessidades do classificador. Esses agentes podem ser discutidos em termos de seus órgãos-alvo, origem, uso e efeitos. O termo *toxina* geralmente se refere a uma substância tóxica produzida por sistemas biológicos, como plantas, animais, fungos ou bactérias. O termo *toxicante* é usado para caracterizar substâncias tóxicas (ou seus subprodutos) produzidas em atividades antropogênicas. Agentes tóxicos podem ser classificados em termos de seu estado físico, da estabilidade química ou reatividade, da estrutura química geral ou de seu potencial de intoxicação.

* N. de T.: DL_{50} = dose letal que se pressupõe que irá causar a morte de 50% da população investigada.

TABELA 2-1 Valores de DL_{50} aguda aproximados de alguns agentes químicos representativos

Agente	DL_{50}[1] mg/kg
Álcool etilico	10.000
Cloreto de sódio	4.000
Sulfato ferroso	1.500
Sulfato de morphina	900
Fenobarbital sódico	150
Picrotoxina	5
Sulfato de estricnina	2
Nicotina	1
Tubocuranina	0,5
Hemicolinium-3	0,2
Tedrodotoxina	0,10
Dioxina (TCDD)	0,001
Toxina botulínica	0,00001

[1]DL_{50} é a dose (em mg/kg de peso corporal), que causa a morte de 50% dos animais expostos.

ESPECTRO DE EFEITOS INDESEJÁVEIS

O espectro de efeitos indesejáveis de produtos químicos é amplo. Na terapêutica, por exemplo, cada fármaco produz uma série de efeitos, mas normalmente apenas um deles está associado ao objetivo principal da terapia; todos os outros são referidos como *efeitos indesejáveis* ou *colaterais*. No entanto, alguns desses efeitos secundários podem ser desejados em outra indicação terapêutica. Alguns efeitos colaterais são sempre prejudiciais para o bem-estar dos seres humanos. Estes são referidos como *efeitos adversos, nocivos* ou *tóxicos* do fármaco.

Reações alérgicas

Alergia química é uma reação imunológica a uma substância química que resulta da sensibilização prévia a esse produto químico ou a outra molécula de estrutura semelhante. Os termos *hipersensibilidade, reação alérgica* e *reação de sensibilização* são usados para descrever essa situação (ver Cap. 12). Uma vez ocorrida a sensibilização, reações alérgicas podem resultar da exposição a doses relativamente muito baixas desses produtos químicos. No entanto, para um determinado indivíduo alérgico, reações alérgicas são dose-dependentes. Reações de sensibilização são, por vezes, muito graves e podem ser fatais.

A maioria dos produtos químicos, bem como seus metabólitos, não são suficientemente grandes para serem reconhecidos pelo sistema imune como uma substância estranha; assim, é preciso primeiramente que se combinem com uma proteína endógena para formar o antígeno (ou imunógeno). Essa molécula é chamada de *hapteno*. O complexo hapteno-proteína (antígeno) é, então, capaz de induzir a formação de anticorpos. A exposição subsequente ao mesmo produto químico resulta na mesma interação antígeno-anticorpo, podendo provocar as manifestações típicas de alergia, que, entretanto, variam em severidade desde um leve distúrbio de pele até um choque anafilático fatal.

Reações idiossincráticas

A *idiossincrasia química* refere-se a uma determinada reação geneticamente anormal a uma substância química. A resposta é, em geral, qualitativamente semelhante em todos os indivíduos, embora com sensibilidade diferente a doses baixas ou extrema insensibilidade a altas doses do produto químico. Indivíduos anormalmente sensíveis aos nitritos, por exemplo, oxidam com facilidade o ferro da hemoglobina para produzir *metemoglobina*, que é incapaz de transportar oxigênio aos tecidos. Como consequência, podem desenvolver hipoxia tecidual após exposição a substâncias químicas produtoras de metemoglobina, com doses que seriam inofensivas para indivíduos normais.

Toxicidade imediata *versus* retardada

Os efeitos tóxicos imediatos ocorrem ou desenvolvem-se rapidamente após uma única administração de uma substância, enquanto efeitos tóxicos retardados ocorrem após o decurso de algum tempo. A maioria das substâncias produz efeitos tóxicos imediatos. Contudo, os efeitos carcinogênicos de alguns produtos químicos normalmente têm longos períodos de latência, em geral, 20 a 30 anos após a exposição inicial, antes que os tumores sejam observados nos seres humanos.

Efeitos tóxicos reversíveis *versus* irreversíveis

Alguns efeitos tóxicos de substâncias químicas são reversíveis; outros são irreversíveis. Se uma substância química produz lesão patológica a um tecido, seu efeito, reversível ou irreversível, depende da capacidade de regeneração do tecido. Para o tecido hepático, com sua alta capacidade de regeneração, a maioria das lesões é reversível, enquanto lesões no sistema nervoso central (SNC) são, em grande parte, irreversíveis, porque suas células diferenciadas não podem ser substituídas. Quando os efeitos carcinogênicos e/ou teratogênicos se manifestam, são considerados efeitos tóxicos irreversíveis.

Toxicidade local *versus* sistêmica

Outra distinção entre tipos de efeitos é feita com base no sítio da ação: eles podem ocorrer em locais distintos. Assim, efeitos locais ocorrem no sítio do primeiro contato entre o agente tóxico e o sistema biológico. No entanto, os efeitos sistêmicos necessitam de absorção e distribuição de uma substância tóxica a partir do seu ponto de entrada para um local distante, em que os efeitos deletérios são produzidos. A maioria das substâncias, com exceção de materiais altamente reativos, produz efeitos sistêmicos. Para algumas substâncias, ambos tipos de efeitos podem ocorrer.

A maioria das substâncias químicas que produz toxicidade sistêmica normalmente provoca sua maior ação em apenas um ou dois órgãos, que são referidos como os *órgãos-alvo* da toxicidade de uma substância química. O órgão-alvo de toxicidade, muitas vezes, não é o local de maior concentração do agente químico.

Órgãos-alvo em ordem de frequência de envolvimento em toxicidade sistêmica são o SNC, o sistema circulatório, o sangue e o sistema hematopoiético, órgãos viscerais, como fígado, rins e pulmão, e a pele. Músculos e ossos raramente são tecidos-alvo para efeitos sistêmicos.

Interação de substâncias químicas

Interações químicas podem ocorrer por meio de diversos mecanismos, tais como alterações na absorção, nas ligações proteicas, biotransformação e excreção de uma ou ambas as substâncias tóxicas que estejam interagindo. Além desses modos de interação, a reação do organismo a combinações de substâncias tóxicas pode ser aumentada ou diminuída em razão das respostas toxicológicas no local da ação.

Quando duas substâncias químicas são administradas simultaneamente, pode ocorrer o chamado *efeito aditivo*. Ele representa a soma dos efeitos de cada agente de forma isolada. Já um efeito *sinérgico* ocorre quando os efeitos combinados de dois produtos químicos são muito maiores do que a soma dos efeitos de cada agente dado isoladamente (p. ex., 2 + 2 = 20). A *potenciação* ocorre quando a uma substância sem efeito tóxico sobre um órgão ou sistema é adicionada outra substância química tóxica – o resultado final é um efeito muito mais tóxico (p. ex., 0 + 2 = 10). O isopropanol, por exemplo, não é hepatotóxico, mas quando administrado em conjunto com o tetracloreto de carbono, a hepatotoxicidade deste último é muito maior do que quando ele é administrado sozinho. O *antagonismo* ocorre quando duas substâncias administradas em conjunto interferem uma com a outra. Existem quatro tipos principais de antagonismo: funcional, químico, disposicional e receptor. O *antagonismo funcional* ocorre quando duas substâncias químicas equilibradas produzem efeitos opostos sobre a mesma função fisiológica. A queda acentuada da pressão arterial durante a intoxicação com barbitúricos, por exemplo, pode ser efetivamente antagonizada pela administração intravenosa de um agente vasopressor como adrenalina ou metaraminol. *Antagonismo químico* ou *inativação* ocorre quando uma reação química entre dois compostos produz um produto final menos tóxico. Quelantes de metais, por exemplo, diminuem a toxicidade de íons metálicos, e antitoxinas antagonizam a ação de toxinas de animais diversos. O *antagonismo disposicional* ocorre quando a absorção, a distribuição, a biotransformação ou a excreção de uma substância química é alterada de modo que a concentração e/ou a duração da permanência do produto químico no órgão-alvo são diminuídos. O *antagonismo de receptores* ocorre quando duas substâncias que se ligam ao mesmo receptor produzem um efeito menor quando administradas em conjunto do que quando são somados seus efeitos de maneira separada (p. ex., 4 + 6 = 8) ou quando um produto químico antagoniza o efeito do outro. Antagonistas de receptores são denominados *bloqueadores*.

Tolerância

A tolerância é um estado de resposta diminuída ao efeito tóxico de uma substância química resultante de exposição prévia a essa substância ou a uma substância química estruturalmente relacionada. Dois mecanismos principais são responsáveis pela tolerância: um deles deve-se a uma redução da quantidade de substância tóxica a atingir o local no qual o efeito tóxico é produzido (*tolerância disposicional*), e o outro é devido a uma diminuição da resposta ao produto químico.

CARACTERÍSTICAS DE EXPOSIÇÃO

Em um sistema biológico, os efeitos tóxicos induzidos por um agente químico ou por sua degradação biológica (biotransformação) somente ocorrem se a concentração e o tempo de exposição forem suficientes. Além disso, é necessário que o agente atinja o órgão-alvo e que o indivíduo seja suscetível. Se uma resposta tóxica ocorre, ela é dependente das propriedades químicas e físicas do agente, das condições de exposição, de como o agente é metabolizado pelo sistema, e da suscetibilidade global do sistema biológico ou do indivíduo.

Vias e locais de exposição

As principais vias pelas quais agentes tóxicos ganham acesso ao organismo são a gastrintestinal (ingestão), a pulmonar (inalação), a cutânea (tópica, percutânea ou cutânea) e outras vias parenterais (diferentes da via intestinal). Agentes tóxicos, em geral, produzem respostas de maior efeito e mais rapidamente quando administrados diretamente na corrente sanguínea. A ordem decrescente aproximada de eficácia para vias seria inalação, intraperitoneal, subcutânea, intramuscular, intradérmica, oral e dérmica. O "veículo" (o material no qual o produto químico está dissolvido) e outros fatores de formulação podem alterar significativamente a absorção. Além disso, a via de administração pode influenciar a toxicidade dos agentes. Por exemplo, um agente que atua sobre o SNC e que é de maneira eficiente detoxificado no fígado, seria menos tóxico se administrado por via oral do que se inalado, porque quase a totalidade da dose por via oral passa pelo fígado antes de atingir a circulação sanguínea e, em seguida, o SNC.

Duração e frequência de exposição

Toxicologistas costumam dividir a exposição experimental de animais a produtos químicos em quatro categorias: aguda, subaguda, subcrônica e crônica. A exposição *aguda* é definida como a exposição a uma substância química por menos de 24 horas. Embora essa exposição geralmente se refira a uma única administração, exposições repetidas podem ser feitas em um período de 24 horas para alguns produtos químicos pouco ou praticamente não tóxicos. A exposição aguda por inalação refere-se à exposição contínua por menos de 24 horas, mais frequentemente por 4 horas. A exposição repetida é dividida em três categorias: subaguda, subcrônica e crônica. A *subaguda* refere-se à exposição repetida a um produto químico durante 1 mês ou menos; a *subcrônica*, de 1 a 3 meses, e a crônica, por mais de 3 meses.

Em situações de exposição humana, a frequência e a duração da exposição, em geral, não são tão claramente definidas como em estudos controlados com animais, mas muitos dos mesmos termos são usados para descrever situações de exposição geral. Assim, em relação aos riscos no local de trabalho ou ambientais, a exposição é definida como *aguda* (ocorrendo a partir de um único incidente ou episódio), *subcrônica* (que ocorre repetidamente ao longo de várias semanas ou meses) ou *crônica* (ocorre várias vezes por muitos meses ou anos).

Para muitos agentes, os efeitos tóxicos que se manifestam após uma única exposição são bastante diferentes daqueles produzidos por exposições repetidas. É provável que uma exposição aguda a agentes que são rapidamente absorvidos produza efeitos tóxicos imediatos; entretanto, pode, também, produzir toxicidade retardada, cujos efeitos podem ou não ser semelhantes àqueles da exposição crônica. Já a exposição crônica a um agente tóxico pode produzir efeitos imediatos (agudos) após cada administração além dos efeitos de longo prazo, de baixo nível ou dos efeitos crônicos da substância tóxica. Outro fator relacionado ao tempo de exposição, importante na caracterização temporal de exposições repetidas, é sua frequência. A relação entre a taxa de eliminação e a frequência de exposição é mostrada na Figura 2.1. Um produto químico que produz efeitos graves com uma dose única pode não ter efeito se a mesma dose total for administrada em vários intervalos. Para o produto químico representado pela linha B na Figura 2.1, cuja meia-vida de eliminação (tempo necessário para que 50% do produto químico seja removido da corrente sanguínea) é aproximadamente igual à frequência da dosagem, a concentração tóxica teórica de 2 U não é alcançada até a quarta dose, enquanto a concentração tóxica é atingida com apenas duas doses para o produto químico A, que tem uma taxa de eliminação mais lenta do que o intervalo entre as doses (tempo entre cada dose repetida). Já para o produto químico C, cuja taxa de eliminação é muito menor do que o intervalo entre as doses, uma concentração tóxica jamais será alcançada, independentemente de quantas doses sejam administradas. Naturalmente, é possível que os danos residuais em células ou tecidos ocorram com cada dose, embora a própria substância química não se acumule. Uma importante consideração, portanto, é o intervalo entre as doses que permite a reparação do tecido danificado. Dessa forma, efeitos tóxicos crônicos podem ocorrer se a substância química se acumula no sistema biológico (taxa de absorção excede a taxa de biotransformação e/ou excreção), se ela produz efeitos tóxicos irreversíveis ou se não houver tempo suficiente para o sistema se recuperar dos danos tóxicos dentro do intervalo de frequência de exposição. Para discussões adicionais dessas relações, recomenda-se a leitura dos Capítulos 5 e 7.

DOSE-RESPOSTA

A *relação dose-resposta* relaciona as características de exposição a um agente e seu espectro de efeitos. Seja qual for a resposta selecionada para a medida, a relação entre o grau de resposta do sistema biológico e a quantidade de agente administrada ocorre de tal forma consistente, que pode ser considerada o conceito mais fundamental e abrangente em toxicologia.

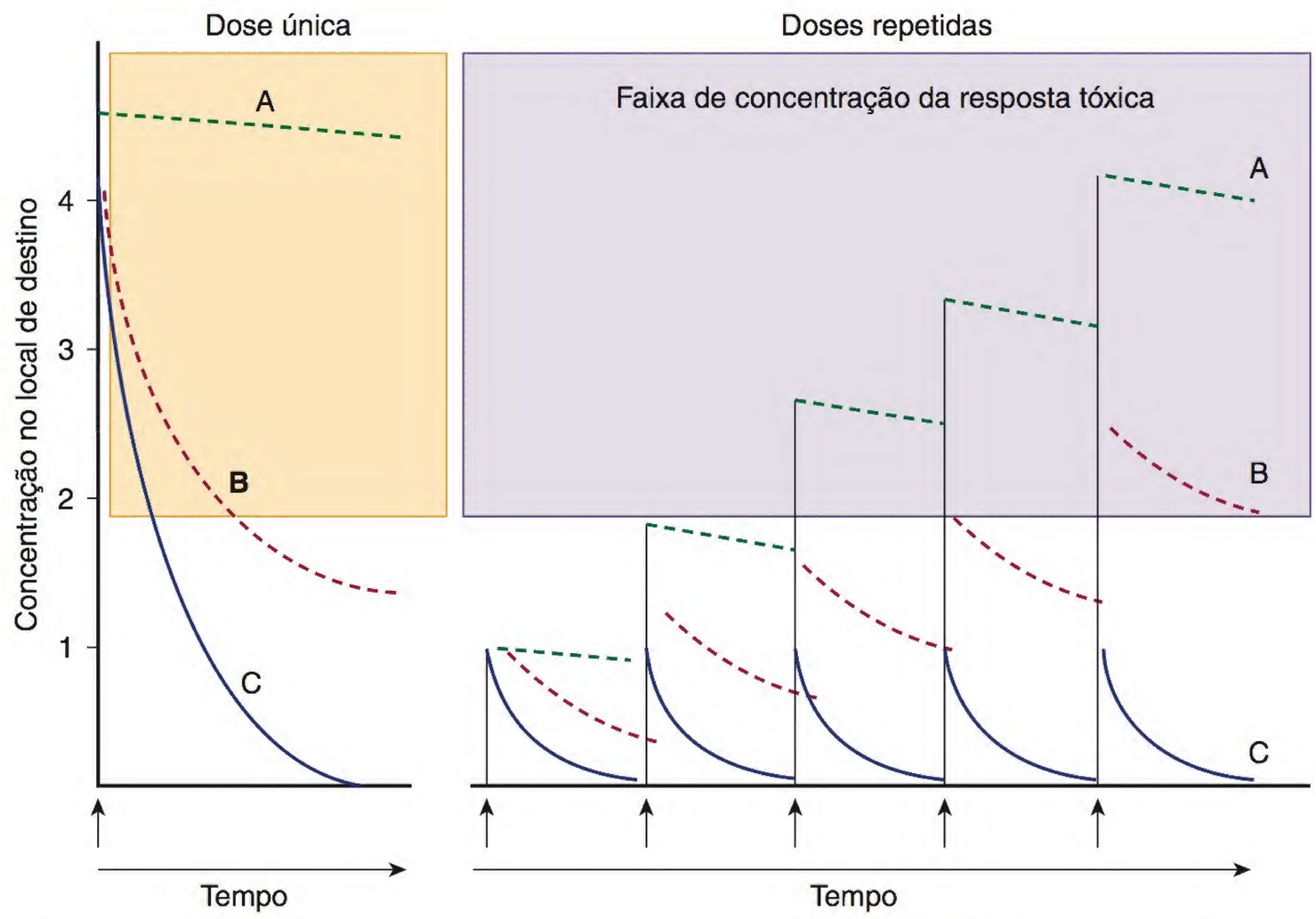


FIGURA 2-1 Visão diagramática da relação entre dose e concentração no local de destino em diferentes condições de frequência de dose e taxa de eliminação. Linha A. Um produto químico com eliminação muito lenta (por exemplo, meia-vida de 1 ano). Linha B. Um produto químico, com uma taxa de eliminação igual a frequência de administração (por exemplo, um dia). Linha C. Taxa de eliminação mais rápida do que a frequência de administração (por exemplo, 5 h). Área em roxo é representativa da concentração do produto químico no local de destino, necessária para obter uma resposta tóxica.

Do ponto de vista prático, existem dois tipos de relações dose-resposta: (1) a relação dose-resposta individual, que descreve a resposta de um organismo *individual* a diferentes doses de uma substância química, muitas vezes referida como uma resposta "graduada", porque o efeito medido é contínuo entre intervalos de doses; e (2) uma relação dose-resposta quântica, que caracteriza a distribuição de respostas diante de doses diferentes em uma *população* de organismos individuais.

Relações dose-resposta individual ou graduada

Relações individuais dose-resposta são caracterizadas por um aumento na gravidade da resposta relacionado à dose. A Figura 2.2, por exemplo, mostra a relação dose-resposta entre diferentes doses do inseticida organofosforado clorpirifós encontrado na dieta alimentar e a medida de inibição de duas enzimas diferentes no cérebro e no fígado: acetilcolinesterase e carboxilesterase. No cérebro, o grau de inibição da enzima está claramente relacionado com a dose e estende-se por uma vasta gama, embora a quantidade de inibição por dose unitária seja diferente para as duas enzimas. A forma dessas duas curvas dose-resposta indica que a colinesterase no cérebro pode ser mais facilmente inibida do que a carboxilesterase. A resposta toxicológica resultante está diretamente relacionada ao grau de inibição da enzima colinesterase no cérebro. Deve ser observado que as substâncias mais tóxicas têm vários sítios ou mecanismos de toxicidade, cada um com sua própria relação "dose-resposta" e subsequentes efeitos adversos.

Relação dose-resposta quantal

Ao contrário da relação dose-resposta "graduada" ou contínua, que ocorre em indivíduos, a relação dose-resposta de uma *população* é por definição quantal – ou seja, "tudo ou nada". Isso significa que, em qualquer dose administrada, um indivíduo da população é classificado como "respondente" ou como "não respondente". Embora essas distinções de "população quantal" ou "individual graduada" das relações dose-resposta sejam úteis, os dois tipos de respostas são conceitualmente idênticos. A ordenada, em ambos os casos, denomina-se simplesmente *resposta*, que pode ser o grau de resposta de um indivíduo ou do sistema ou da resposta de uma fração da população, enquanto a abscissa é o intervalo entre as doses administradas.

A DL_{50} é a dose única, calculada estatisticamente, de uma substância que se espera causar a morte em 50% dos animais testados. O cálculo é estatístico. O painel superior da Figura 2.3 mostra que a relação dose-resposta quantal, como em relação à letalidade, apresenta uma distribuição normal, ou distribuição de Gauss. O histograma de frequência nesse painel também mostra a relação entre dose e efeito. As barras representam a porcentagem de animais que morreram em cada dose menos a porcentagem que morreu com a dose imediatamente inferior. Pode-se ver claramente que apenas alguns animais responderam à dose mais baixa e à dose mais alta. A maioria respondeu a doses intermediárias entre esses dois extremos, e a frequência máxima de resposta ocorreu na porção média do intervalo de dose. Assim, tem-se uma curva em forma de sino, conhecida como *distribuição normal*. A razão para essa distribuição nor-

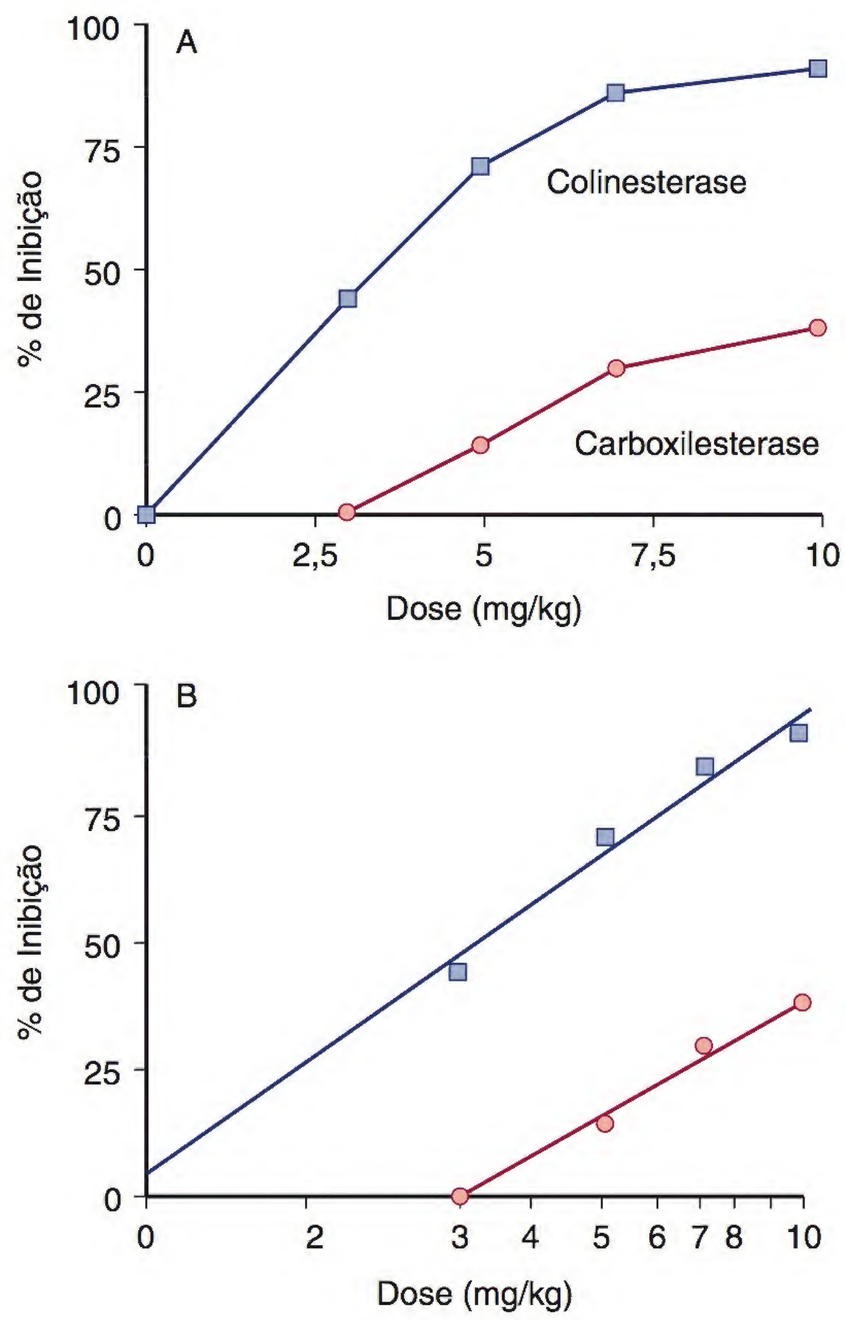


FIGURA 2-2 Relação dose-resposta entre diferentes doses do inseticida organofosforado cloropirifós e inibição da enzima esterase no cérebro. Os quadrados abertos e linhas azuis representam a atividade da acetilcolinesterase e os círculos fechados representam atividade da carboxilesterase no cérebro de fêmeas de ratos Long--Evans grávidas que receberam doses diárias de cloropirifós. A curva dose-resposta plotada em escala aritmética. B. Mesmos dados plotados em uma escala semi-log. (Dados de Lassiter et al: Gestational exposure to chlorpyrifos: dose response profiles for cholinesterase and carboxylesterase activity. Toxicol Sci 52:92-1 00, 1999, Oxford University Press.)

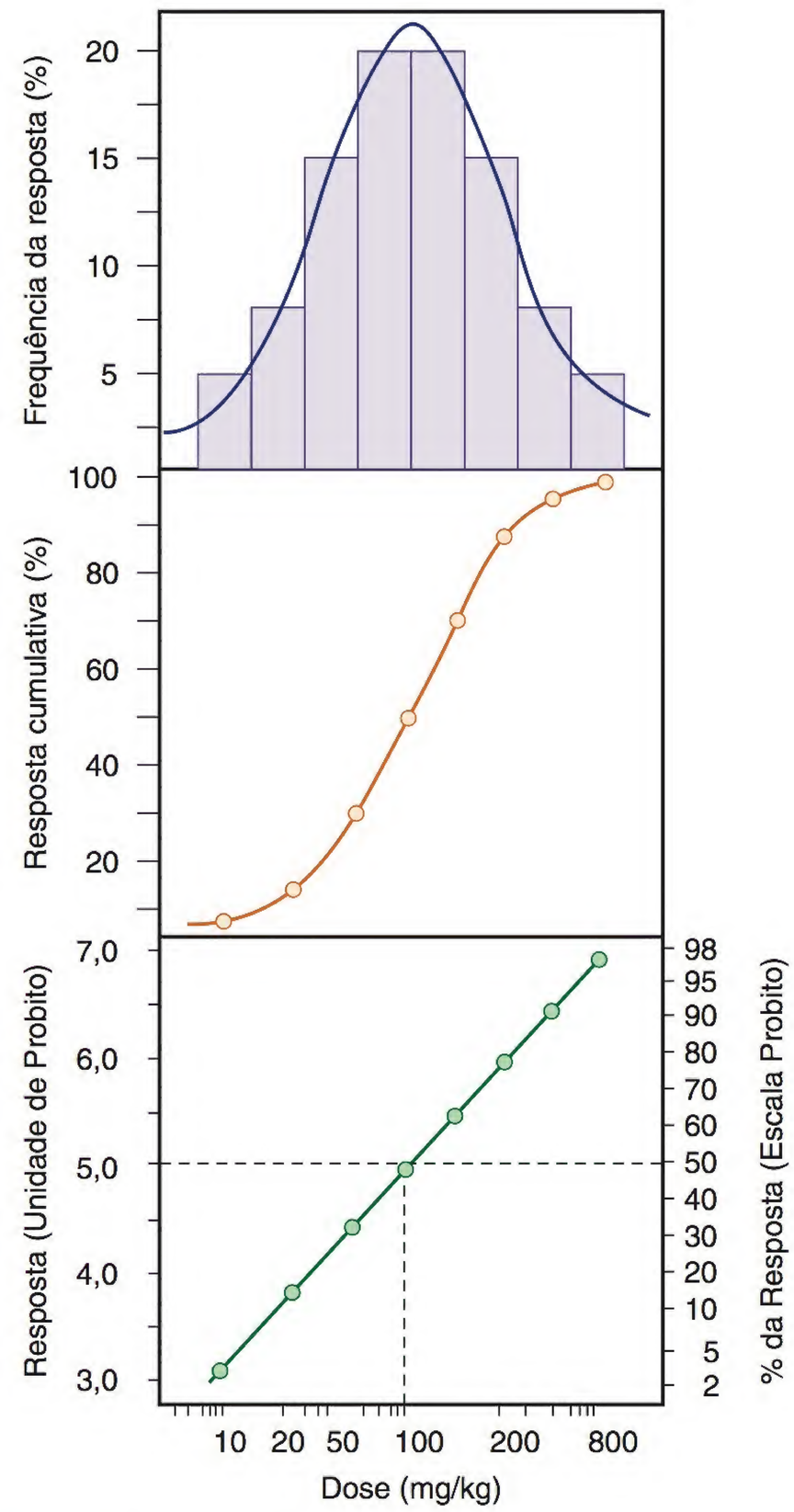


FIGURA 2-3 Diagrama de uma relação dose-resposta quantal. A abscissa é o logaritmo da dosagem de um produto químico. No painel superior a ordenada é a frequência de mortalidade, no painel do meio a ordenada é a mortalidade em percentagem, e no painel inferior, a mortalidade está em unidades de probito (ver texto).

mal é que existem diferenças na suscetibilidade aos produtos químicos entre os indivíduos. Animais cujas respostas estão na extremidade esquerda da curva são conhecidos como *hipersensíveis*, e aqueles na extremidade direita da curva são chamados de *resistentes*. Se o número de indivíduos que respondeu a cada dose consecutiva for somado, um valor acumulado da relação dose-resposta quantal é obtido. Quando um número de doses suficiente for usado com um grande número de animais por dose, uma curva sigmoide da dose-resposta é observada, como representado no painel central da Figura 2.3. A menor dose (6 mg/kg) causa a morte de 1% dos animais. Uma curva de distribuição normal sigmoide como essa apresenta uma resposta próxima a 0%, com a diminuição da dose, e se aproxima a 100% com o aumento desta, mas, teoricamente, ela nunca passa por 0 e 100%. No entanto, a dose mínima efetiva (DE) de qualquer produto químico que evoca uma resposta do tipo tudo ou nada é denominada *dose limite*, mesmo que não possa ser determinada experimentalmente.

A curva sigmoide tem uma porção relativamente linear entre 16 e 84%. Esses valores representam os limites do desvio--padrão (DP) da média (e a mediana) em uma população com distribuição verdadeiramente normal. Nesta, a média ± 1 DP representa 68,3% da população, a média ± 2 DP representa 95,5%, e a média ± 3 DP é igual a 99,7% da população. Como os fenômenos dose-resposta quantais são, em geral, distribuídos normalmente, pode-se converter a resposta expressa em porcentagem para as unidades do desvio da média ou desvio equivalente normal (DEN). Assim, o DEN para uma resposta de 50% é 0; um DEN de + 1 é equiparado a uma resposta de 84,1%. Unidades de DEN podem ser convertidas pela adição de 5 unidades para se evitarem números negativos, e são, assim, chamados de *unidades de probito* (uma contração do inglês *prob*ability un*it*). Nessa transformação, uma resposta de 50% torna-se um probito de 5; um desvio + 1 torna-se um probito de 6; e um -1, um probito de 4.

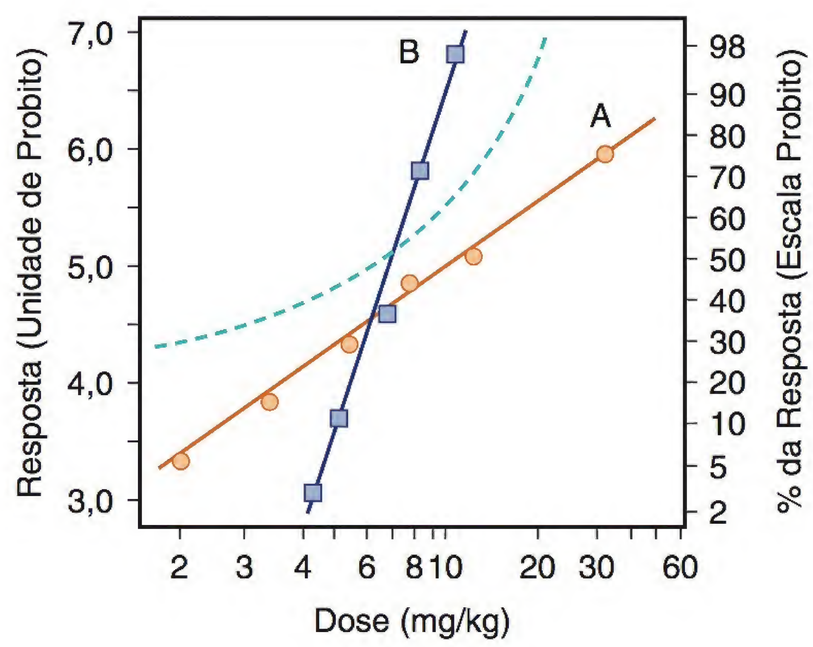


FIGURA 2-4 Comparação da relação dose-resposta de duas substâncias químicas diferentes, plotados em escala logarítmica da dose e escala probito. Note-se que a inclinação da relação dose-resposta é mais íngreme para produto químico B do que para o produto químico A. As linhas pontilhadas representam os limites de confiança para o produto químico A.

Os dados apresentados nos dois primeiros painéis da Figura 2.3 são retraçados no painel de fundo com a mortalidade representada em unidades probito para formar uma linha reta. Em essência, o que é realizado em uma transformação probito é um ajuste da mortalidade ou de outros dados quantais a uma distribuição normal da população, resultando em uma linha reta. A DL_{50} é obtida traçando-se uma linha horizontal da unidade de probito 5, que é o ponto 50% de mortalidade, para a linha dose-resposta. No ponto de intersecção, uma linha vertical é traçada, que intercepta a abscissa no ponto da DL_{50}. Além da DL_{50}, a inclinação da curva dose-resposta também pode ser obtida. A Figura 2.4 mostra as curvas dose-resposta para a mortalidade dos dois compostos. O composto A apresenta uma curva dose-resposta "horizontal", mostrando que é necessária uma grande mudança na dosagem para que uma mudança significativa na resposta seja observada. No entanto, o composto B apresenta curva dose-resposta "inclinada", em que uma mudança relativamente pequena na dosagem irá causar uma grande mudança na resposta. A DL_{50} para ambos os compostos é a mesma (8 mg/kg), entretanto, as inclinações das curvas dose-resposta são bastante diferentes. Na metade da DL_{50} dos dois compostos (4 mg/kg), menos de 1% dos animais expostos ao composto B morreriam, porém, dos expostos ao composto A, morreriam 20%.

Observa-se que a dosagem com base no peso corporal é menos adequada do que outras bases de medida, como área de superfície corporal, que é aproximadamente proporcional ao (peso corporal)$^{2/3}$. Na Tabela 2.2, são apresentados valores selecionados que comparam as diferenças na dosagem pelas duas bases alternativas de medida. Observa-se que uma dose de 100 mg/kg, administrada em miligramas por animal, é claramente proporcional à dose administrada ajustada por peso. A área da superfície corporal não é proporcional ao peso: o peso de um ser humano é 3.500 vezes maior do que o de um camundongo, e a área de superfície dos seres humanos é apenas 390 vezes maior do que a do camundongo. A mesma dose dada aos seres humanos e aos camundongos com base no peso (mg/kg) seria aproximadamente 10 vezes maior em humanos do que em camundongos se a dosagem fosse expressa por área de superfície (mg/cm^2).

Forma da curva dose-resposta

Nutrientes essenciais A forma da curva relação dose-resposta tem muitas implicações importantes na avaliação da toxicidade. Por exemplo, para as substâncias que são necessárias para o funcionamento fisiológico normal e a sobrevivência (p. ex., as vitaminas e os oligoelementos essenciais como cromo, cobalto e selênio), a forma de relação dose-resposta "graduada" de um indivíduo sobre a totalidade da faixa de dose é realmente em forma de um "U" (Fig. 2.5). Ou seja, em doses muito baixas (ou deficiência), existe um elevado nível de efeito adverso, que diminui com o aumento da dose. Com o aumento da dose até um ponto em que a deficiência não existe mais, não há mais resposta ad-

TABELA 2-2 Dimensionamento alométrico de doses entre espécies diferentes

			Diferença, relativa aos humanos, normalizada por peso corporal (PC)		
Espécie	Peso (kg)	Superfície corporal (cm^2)*	mg/kg	(PC)$^{2/3}$	(PC)$^{3/4}$
Camundongo	0,02	103	1	13,0	7,0
Rato	0,2	365	1	6,9	4,3
Porquinho-da-índia	0,4	582	1	5,5	3,6
Coelho	1,5	1410	1	3,5	2,6
Gato	2	1710	1	3,2	2,4
Macaco	4	2720	1	2,6	2,0
Cão	12	5680	1	1,8	1,5
Ser humano	70	18500	1	1,0	1,0

*Superfície corporal de animais é estimada pela fórmula: SC = 10,5 x (peso[em gramas])$^{2/3}$.

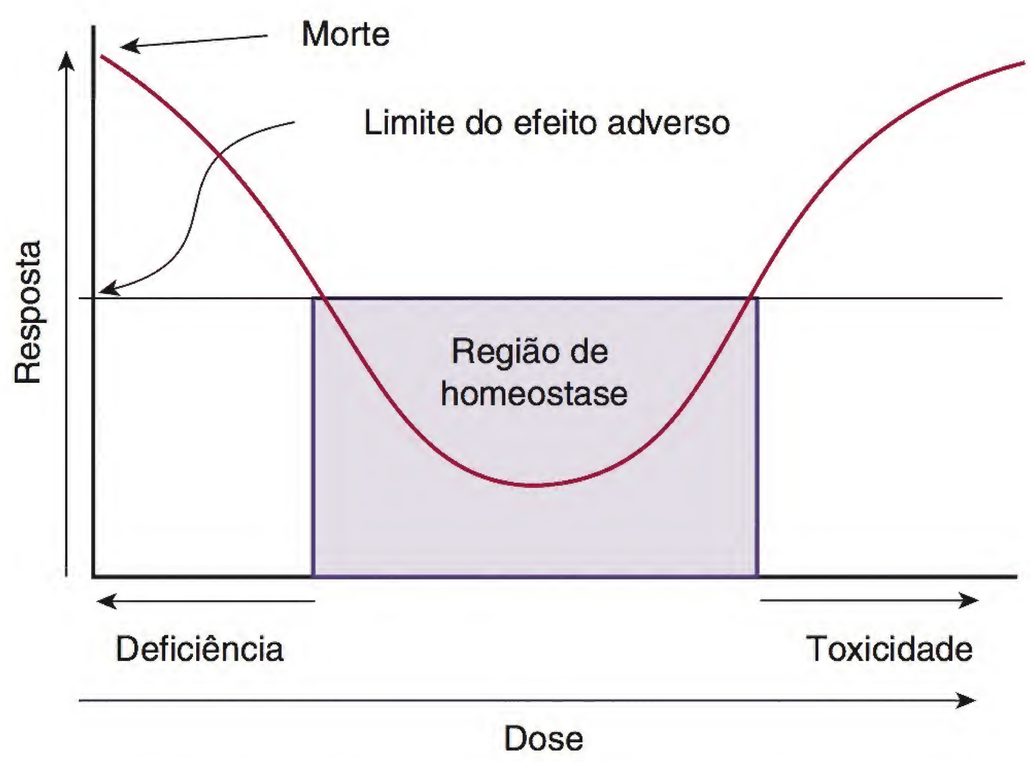


FIGURA 2-5 Relação dose-resposta individual para uma substância essencial, como uma vitamina ou oligoelemento. É geralmente reconhecido que, para a maioria dos tipos de respostas tóxicas, existe um limiar de tal forma que, em doses abaixo do limite, nenhuma toxicidade é evidente. Para substâncias essenciais, doses abaixo da exigência mínima diária, bem como aquelas acima do limiar de segurança, podem estar associadas a efeitos tóxicos. A região roxo-sombreada representa a "região da homeostase", a faixa de dose que não resulta em deficiência, nem toxicidade.

versa detectada, e o organismo está em um estado de homeostase. No entanto, se a dose for aumentada a níveis muito elevados, uma reação adversa (em geral, qualitativamente diferente da observada em doses baixas) aparece e aumenta em magnitude com o aumento da dose.

Hormesis Algumas substâncias tóxicas não nutricionais também podem produzir efeitos benéficos ou estimulantes em doses baixas, mas, em doses altas, produzem efeitos adversos. Esse conceito de *hormesis* também pode resultar em uma curva dose-resposta em forma de U. Sabe-se, por exemplo, que o consumo crônico de álcool aumenta o risco de câncer de esôfago, câncer de fígado e cirrose hepática em doses relativamente altas, e essa resposta é dose-dependente (curva A, Fig. 2.6). No entanto, há evidências clínicas e epidemiológicas substanciais de que doses baixas a moderadas de consumo de álcool reduzem a incidência de doença coronariana e acidente vascular encefálico (curva B, Fig. 2.6). Assim, quando todas as respostas estão traçadas na ordenada, uma curva dose-resposta em forma de "U" é obtida (curva C, Fig. 2.6).

Limites Outro aspecto importante da relação dose-resposta em baixas doses é o conceito de dose limite, uma dose abaixo da qual a probabilidade de um indivíduo responder é zero. Os limites para a maioria dos efeitos tóxicos existem para a relação dose-resposta individual. Entretanto, devido à variabilidade interindividual para as respostas e às mudanças qualitativas no tipo de resposta a uma dose, é difícil estabelecer a verdadeira dose limite que causa "ausência de efeito" para qualquer produto químico. Na identificação de níveis "seguros" de exposição a uma substância, é importante determinar a presença ou a ausência de um limite.

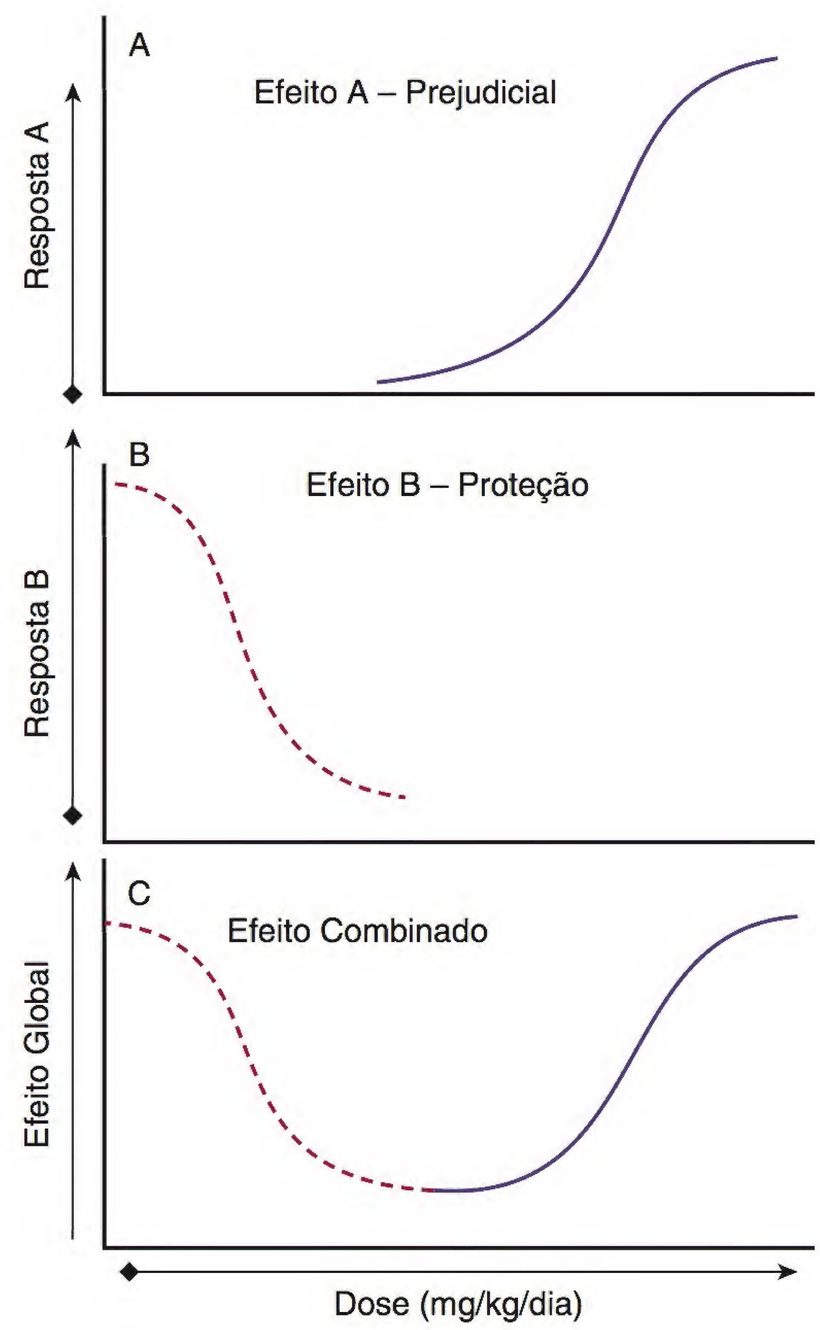


FIGURA 2-6 Relação dose-resposta hipotética que descrevem as características de hormese. Efeitos horméticos de uma substância ocorrem hipoteticamente quando doses relativamente baixas resultam na estimulação de uma resposta benéfica ou de proteção (B), tais como indução de vias enzimáticas, que protegem contra o estresse oxidativo. Embora baixas doses fornecer um potencial efeito benéfico, um limite é ultrapassado com o aumento da dose e os efeitos serão prejudiciais (A), resultando em um típico aumento dose-dependente de toxicidade. A curva dose-resposta completa (C) é conceitualmente semelhante à relação dose-resposta individuais de nutrientes essenciais que aparecem na Figura 2-5.

Ao avaliar o perfil da relação dose-resposta em populações, é realista considerar inflexões do perfil da curva dose-resposta, em vez dos limites absolutos; isto é, a inclinação da curva da relação dose-resposta em altas doses pode ser substancialmente diferente da inclinação em doses baixas, em geral por causa das diferenças da disposição dos produtos químicos. A saturação das vias de biotransformação, dos locais de ligação às proteínas ou aos receptores e o esgotamento dos cofatores intracelulares representam algumas razões pelas quais inflexões nítidas nas curvas das relações dose-resposta podem ocorrer.

Hipóteses na derivação da relação dose-resposta

Uma série de hipóteses deve ser considerada antes de as relações dose-resposta serem usadas de forma apropriada. A primei-

ra é de que a resposta é devida ao produto químico administrado, uma relação de causa e efeito.

A segunda hipótese é de que a magnitude da resposta está relacionada à dose. Isso pressupõe que há um sítio-alvo molecular (ou sítios) com o qual o produto químico interage para iniciar a resposta, que está relacionada com a concentração do agente no local de destino, a qual, por sua vez, está relacionada à dose administrada.

A terceira hipótese de utilização da relação dose-resposta é a de que existem um método quantitativo de medida e meios precisos de expressar a toxicidade. Um determinado produto químico pode ter uma série de relações dose-resposta, uma para cada efeito tóxico resultante. Por exemplo, um produto químico que produz câncer por meio de efeitos genotóxicos, danos ao fígado pela inibição de uma enzima específica, e efeitos sobre o SNC por meio de um mecanismo diferente, pode ter três diferentes relações dose-resposta, uma para cada um dos efeitos.

Para cada nova substância, o ponto habitual de partida é uma dose única empregada no teste de toxicidade aguda, projetada para fornecer identificação preliminar de toxicidade nos órgãos-alvo. Estudos projetados especificamente com letalidade como resultado final já não são recomendados pelos Estados Unidos ou por agências internacionais. Dados de estudos de toxicidade aguda fornecem informações essenciais para a escolha de doses para estudos de doses repetidas, assim como para a escolha de efeitos toxicológicos específicos para pesquisas mais aprofundadas. A partir desses estudos, é possível obter indícios sobre a direção de novas pesquisas por meio de duas maneiras importantes. Um estudo de toxicidade aguda normalmente é apoiado por exames histológicos dos principais tecidos e órgãos para verificar a presença de anormalidades. A partir dessas observações, podem-se obter informações mais específicas sobre os eventos que levaram ao efeito letal, os órgãos-alvo envolvidos e, muitas vezes, uma sugestão sobre o possível mecanismo de toxicidade.

Avaliação da relação dose-resposta

Comparação de dose-resposta A Figura 2.7 ilustra uma curva dose-resposta quantal hipotética para um efeito desejável DE como a anestesia de um produto químico, a dose tóxica (DT) de efeitos como lesões hepáticas, e a dose letal (DL). Mesmo que as curvas DE e DL sejam paralelas, o mecanismo pelo qual o fármaco age não é necessariamente aquele pelo qual os efeitos letais são causados. A mesma advertência se aplica a quaisquer curvas de efeitos paralelos ou a qualquer outro par de curvas para toxicidade ou letalidade.

Índice terapêutico As curvas hipotéticas na Figura 2.7 ilustram dois pontos inter-relacionados: a importância da escolha do critério de toxicidade e a interpretação do efeito comparativo. O *índice terapêutico* (IT) é definido como a relação entre a dose necessária para produzir um efeito tóxico e a dose necessária para obter a resposta terapêutica desejada. Da mesma forma, um índice de toxicidade comparativa é obtido pela razão das doses de dois produtos diferentes para produzir uma resposta idêntica, ou a razão de doses do mesmo produto necessária para produzir efeitos tóxicos diferentes.

O índice de efeito mais utilizado, seja benéfico ou tóxico, é a mediana da dose, ou seja, a dose necessária para provocar

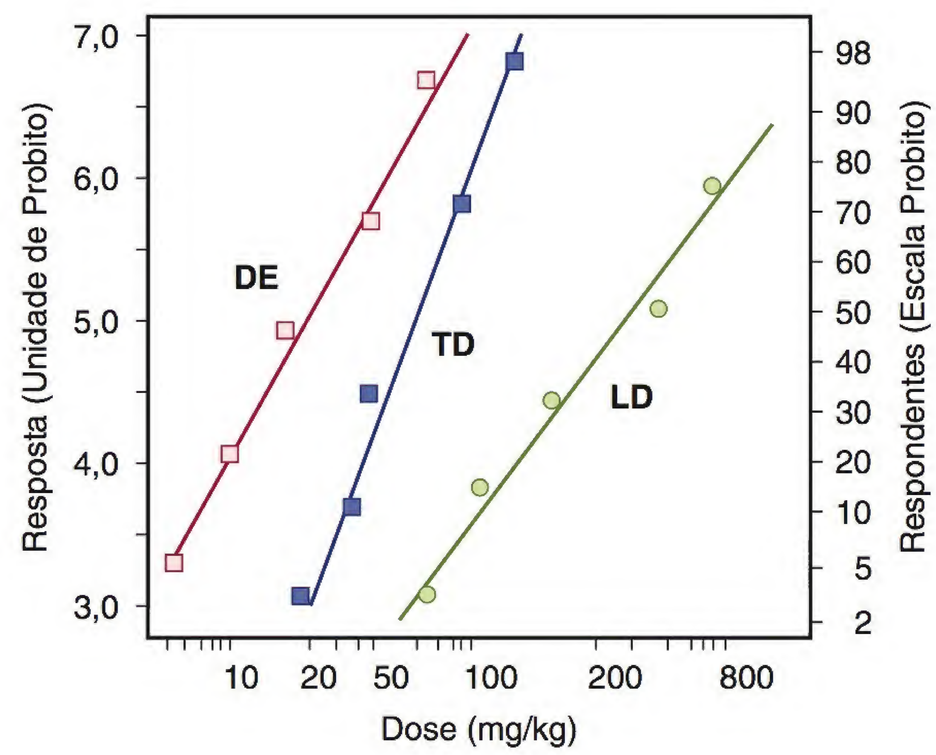


FIGURA 2-7 Comparação de dose efetiva (DE), a dose tóxica (DT), e dose letal (DL). O grafico é o logaritmo da dosagem *versus* a porcentagem da população respondendo em unidades de probito.

uma resposta em 50% de uma população (ou para produzir 50% de uma resposta máxima). O IT de um fármaco é uma declaração aproximada sobre a segurança relativa de um medicamento expressa como a razão da DT (historicamente a DL) e a dose terapêutica:

$$TI = \frac{TD_{50}}{DE_{50}}$$

A partir da Figura 2.7, pode-se estimar o IT usando essas doses medianas. Quanto maior a razão, maior é a segurança relativa. A DE_{50} é de, aproximadamente, 20, e a DT_{50} é de cerca de 60, portanto, o IT é 3, um número que indica que os cuidados razoáveis na exposição ao fármaco são necessários para evitar toxicidade. No entanto, doses medianas não informam sobre as inclinações das curvas dose-resposta para efeitos terapêuticos e tóxicos.

Margens de segurança e de exposição Uma maneira para superar essa deficiência é a utilização da DE_{99} para o efeito desejado e a DL_1 para o efeito indesejado. Esses parâmetros são usados para calcular a margem de segurança:

$$\text{Margem de segurança} = \frac{LD_1}{DE_{99}}$$

Para os produtos químicos não terapêuticos, a *margem de segurança* é um indicador da magnitude da diferença entre uma "dose exposta" em uma população humana e o nível de efeitos adversos não observáveis (NOAEL; *no observable adverse effect level*), determinada em animais experimentais.

Potência *versus* eficácia Para comparar os efeitos tóxicos de duas ou mais substâncias químicas, a dose-resposta e os efeitos tóxicos de cada produto químico devem ser estabelecidos. A potência e a eficácia máxima destes para produzir um efeito tóxico podem ser explicadas tomando-se como exemplo a Figura 2.8. O produto químico A parece ser mais potente do que o B, e C é mais potente do que D, em razão de suas posições relativas ao longo do eixo da dosagem. Potência, portanto, refere-se ao intervalo de do-

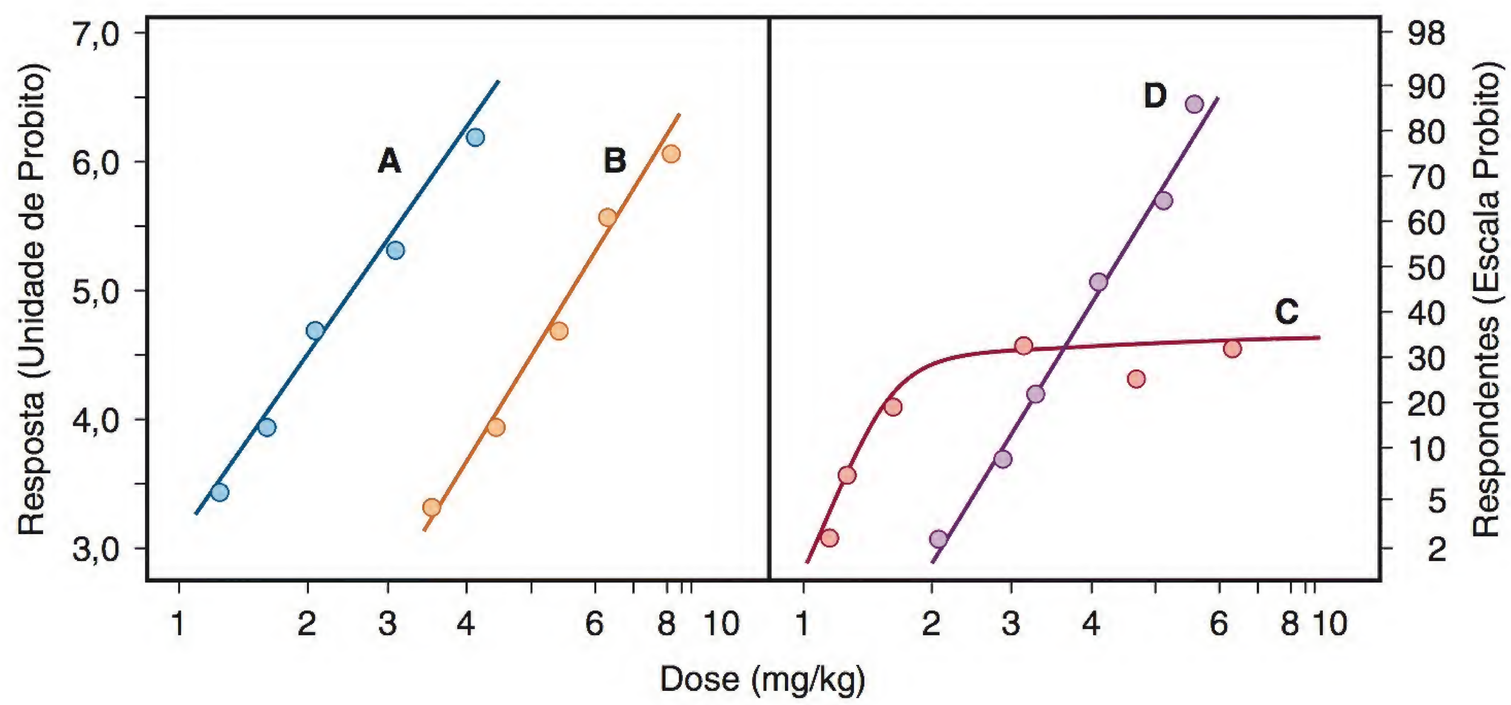


FIGURA 2-8 Representação esquemática da diferença nas curvas de dose-resposta para quatro produtos químicos (A-D), ilustrando a diferença entre a potência e eficácia (ver texto).

ses em que uma substância química produz respostas crescentes. A eficácia máxima reflete o limite da relação dose-resposta no eixo resposta a um determinado produto químico. Os produtos químicos A e B têm uma eficácia máxima igual, enquanto a máxima eficácia de C é menor do que de D.

VARIAÇÃO DAS RESPOSTAS TÓXICAS

Toxicidade seletiva

Toxicidade seletiva significa que uma substância química produz lesão a um tipo de matéria viva sem prejudicar outra forma de vida, mesmo que as duas possam existir em contato íntimo. Ao tomar vantagem da diversidade biológica, é possível desenvolver fármacos que sejam letais para uma espécie indesejada e inofensivos para outras espécies. Tal toxicidade seletiva pode ser devida a diferenças na distribuição (absorção, biotransformação ou excreção) ou a processamentos bioquímicos diferentes do toxicante por diferentes organismos.

Espécies diferentes

Apesar de um princípio básico da toxicologia indicar que "resultados experimentais em animais, quando devidamente qualificados, são aplicáveis a humanos", é importante reconhecer que diferenças quantitativas e qualitativas na resposta a substâncias tóxicas podem ocorrer entre diferentes espécies. A identificação das bases mecanísticas para diferenças entre espécies em resposta a substâncias químicas estabelece a importância dos dados animais para a resposta humana.

Diferenças individuais na resposta

Mesmo em uma mesma espécie, significativas diferenças interindividuais na resposta a uma substância química podem ocorrer devido a sutis diferenças genéticas que constituem o *polimorfismo genético*. Elas podem ser responsáveis por reações idiossincráticas aos produtos químicos e por diferenças interindividuais nas respostas tóxicas.

TESTES DE TOXICIDADE DESCRITIVA EM ANIMAIS

Dois princípios, em especial, são as bases descritivas de todos os testes de toxicidade animal. O primeiro é o de que os efeitos produzidos por um composto em animais de laboratório, quando devidamente qualificados, são aplicáveis a humanos. O segundo princípio é o de que a exposição de animais de experimentação a agentes tóxicos em altas doses é um método necessário e válido na identificação de possíveis riscos a seres humanos porque a incidência de um efeito em uma população é maior com o aumento da dose ou da exposição. A obtenção de resultados estatisticamente válidos a partir de pequenos grupos de animais utilizados em testes de toxicidade requer o uso de doses relativamente altas, de modo que o efeito ocorra com uma frequência suficiente para ser detectado. No entanto, o uso de altas doses pode criar problemas de interpretação, se a(s) resposta(s) obtida(s) em doses elevadas não ocorrer(em) em baixas doses.

Os testes de toxicidade não são projetados para demonstrar que um produto químico é seguro, mas para caracterizar os efeitos tóxicos que um produto químico é capaz de produzir. Não existe um conjunto de exames toxicológicos que seja realizado em todos os produtos químicos destinados ao comércio. Dependendo da finalidade de um produto químico, os efeitos tóxicos produzidos por análogos estruturais, bem como aqueles produzidos pelo próprio produto químico, contribuem para a determinação dos tipos de testes toxicológicos que devem ser realizados.

Letalidade aguda

O primeiro teste de toxicidade realizado em um novo produto químico é o teste de toxicidade aguda. A DL_{50} e outros efeitos tóxicos agudos são determinados após uma ou mais vias de administração (uma sendo a via oral ou a via prevista de exposição) em uma ou mais espécies animais, geralmente o camundongo e o rato, mas, algumas vezes, o coelho e o cachorro. Fazem-se a verificação diária dos animais e a catalogação do número de animais que morre em um período de 14 dias após uma única dose. Os testes de toxicidade aguda (1) fornecem uma estimativa quan-

titativa da toxicidade aguda (DL_{50}); (2) identificam os órgãos-alvo e outras manifestações clínicas da intoxicação aguda; (3) identificam diferenças entre espécies e espécies suscetíveis; (4) estabelecem a reversibilidade da resposta tóxica; e (5) fornecem orientação nas doses a serem usadas em outros estudos.

A determinação da DL_{50} tornou-se uma questão controversa por ser motivo de preocupação crescente quanto ao bem-estar e à proteção dos animais de laboratório. Como ela não é uma constante e muitas variáveis influenciam sua estimativa, na maioria dos casos, é necessário caracterizar apenas a DL_{50} dentro de uma ordem de intervalo de magnitude (p. ex., 5 a 50 e 5 a 50 mg/kg).

Se há uma probabilidade razoável de exposição dérmica ou por inalação ao material, estudos de toxicidade aguda por vias inalatória e dérmica são realizados. Quando os animais são expostos de forma aguda a substâncias químicas no ar que respiram ou na água em que vivem (os peixes), a concentração letal 50 (CL_{50}) é geralmente determinada para um tempo de exposição conhecido, que é a concentração da substância química no ar ou na água que provoca a morte em 50% dos animais. O teste de toxicidade dérmica aguda costuma ser realizado em coelhos. O local da aplicação é raspado, a substância é aplicada e coberta por 24 horas e, então, removida. A pele é limpa e os animais são observados por 14 dias para calcular a DL_{50}. Estudos de inalação aguda são realizados de forma similar a outros estudos de toxicidade aguda, exceto pela rota de exposição ser inalatória com 4 horas de duração.

Estudos de letalidade aguda são essenciais para caracterizar os efeitos tóxicos dos produtos químicos e seus perigos para seres humanos. As informações científicas mais significativas derivadas dos ensaios de letalidade aguda vêm de observações clínicas e de exames *post mortem* dos animais, e não dos valores específicos da DL_{50}.

Irritação dérmica e ocular

Para o teste de irritação dérmica (teste de Draize), a pele de coelhos é raspada, o produto químico é aplicado em uma área intacta e em duas áreas esfoladas e cobertas por 4 horas. O grau de irritação da pele é avaliado para eritema (vermelhidão), escaras (cicatriz), edema de formação (inchaço) e ação corrosiva. Essas observações de irritação dérmica são repetidas em vários intervalos após a remoção da cobertura da área testada. Para determinar o grau de irritação ocular, o produto químico é instilado em um olho de cada coelho testado. O olho contralateral é usado como controle. Os olhos dos coelhos são examinados em vários momentos após a aplicação.

Para avaliar a toxicidade cutânea e ocular de várias substâncias, foram desenvolvidos modelos alternativos *in vitro* incluindo queratinócitos epidérmicos e modelos de cultura de células epiteliais da camada córnea.

Sensibilização

Além dos testes de irritação, são necessárias informações sobre o potencial de sensibilização das substâncias que podem repetidamente entrar em contato com a pele. Em geral, a substância química de ensaio é administrada diretamente sobre a pele de porquinhos-da-índia por via tópica, intradérmica, ou ambas, durante um período de 2 a 4 semanas. Cerca de 2 a 3 semanas após o último tratamento, é administrada aos animais uma concentração não irritante da substância testada, e o aparecimento de eritema é avaliado.

Ensaios subagudos (estudos de doses repetidas)

Os testes de toxicidade subaguda são realizados para que sejam obtidas informações sobre a toxicidade de um produto químico após a administração repetida, em geral por 14 dias, e também para auxiliar na determinação das doses para os estudos de toxicidade subcrônica.

Ensaios subcrônicos

Ensaios subcrônicos geralmente têm duração de 90 dias. Seus principais objetivos são estabelecer o "nível mais baixo para um efeito adverso observável" (LOAEL-*lowest observed adverse effect level*) e o NOAEL, bem como identificar e, ainda, caracterizar um determinado órgão ou órgãos afetados pela substância de ensaio após a administração repetida.

Um estudo subcrônico é, em geral, realizado em duas espécies (ratos e cães para a Food and Drug Administration [FDA]; camundongos e ratos para a Environmental Protection Agency [EPA]) pela via de exposição pretendida. Pelo menos três doses são empregadas (uma dose de elevada toxicidade, mas que produz menos de 10% de letalidade, uma dose baixa que não produz efeitos tóxicos aparentes, e uma dose intermediária). Os animais devem ser observados uma ou duas vezes por dia para sinais de toxicidade. Todas as mortes prematuras devem ser registradas, e os animais, necropsiados. Animais em agonia devem ser sacrificados imediatamente para preservar os tecidos e evitar sofrimento desnecessário. No final dos 90 dias de ensaio, todos os animais restantes devem ser sacrificados, e o sangue e os tecidos são recolhidos para análises posteriores. As condições macroscópicas e microscópicas dos órgãos e tecidos são registradas e avaliadas. Análises hematológicas e bioquímicas do sangue e da urina são geralmente feitas antes, no meio e ao término da exposição. Os exames de sangue determinam a concentração de hemoglobina, o hematócrito, a contagem de eritrócitos, a contagem total e diferencial de leucócitos, o número de plaquetas, o tempo de coagulação e o tempo protrombina. As determinações bioquímicas comuns incluem a glicemia, a dosagem de cálcio, potássio, ureia, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), gama-glutamiltransferase (GGT), desidrogenase sorbitol, desidrogenase lática, fosfatase alcalina, bilirrubina, creatinina, triglicerídeos, colesterol, albumina, globulina e proteínas totais. O exame de urina inclui a determinação da gravidade específica ou osmolaridade, o pH, proteínas, glicose, cetonas, bilirrubina e urobilinogênio, bem como o exame microscópico de elementos formados. Caso seres humanos tenham exposição significativa ao produto químico por contato dérmico ou por inalação, podem ser necessários experimentos subcrônicos dérmicos e/ou por inalação.

Ensaios crônicos

Estudos sobre a exposição de longa duração ou crônica são semelhantes aos ensaios subcrônicos, exceto pelo período de exposição, que costuma ser de 6 meses a 2 anos. Os testes de toxicidade crônica são, muitas vezes, planejados para avaliar a toxicidade cumulativa e o potencial carcinogênico de produtos químicos. Ambos os exames, macroscópico e microscópico, são feitos não apenas em animais que sobrevivem à exposição crônica, mas também naqueles que morrem de forma prematura.

A seleção da dose é fundamental para garantir que a mortalidade precoce por toxicidade crônica não se limite ao número de animais que sobrevivem como resultado da expectativa de vida normal. A maioria das diretrizes regulamentares exige que a maior dose administrada seja a dose máxima estimada tolerável (DMT), ou seja, a dose que suprime o ganho de peso ligeiramente em um estudo subcrônico de 90 dias. Em geral, uma ou duas doses adicionais, normalmente a metade e um quarto da DMT, além de um grupo-controle, são testados.

Ensaios de toxicidade crônica costumam avaliar o potencial de oncogenicidade das substâncias-teste. Tanto os tumores benignos como os malignos são registrados. Estudos crônicos de oncogenicidade, planejados de maneira adequada, requerem um grupo-controle pareado com variáveis concomitantes, como idade, dieta e condições de alojamento.

Outros testes

Os efeitos dos produtos químicos sobre a reprodução e o desenvolvimento são discutidos nos Capítulos 10 e 20. Bioensaios de oncogenicidade são introduzidos no Capítulo 8. A mutagenicidade é discutida em detalhes no Capítulo 9. Informações sobre os métodos, conceitos e problemas associados à toxicologia inalatória são fornecidas nos Capítulos 15 e 28. Uma discussão sobre neurotoxicidade e toxicologia comportamental pode ser encontrada no Capítulo 16, e a avaliação da imunotoxicidade é mencionada no Capítulo 12.

TOXICOGENÔMICA

A toxicogenômica define a interação entre genes e substâncias tóxicas na etiologia da toxicidade. Transcrição, proteína e perfil de metabólitos são combinados com toxicologia convencional. O genoma humano consiste em cerca de 3 bilhões de pares das bases de desoxirribonucleotídeos. A expressão diferencial de genes em uma célula é em grande parte responsável pela função de diversos dos milhares de tipos diferentes de células, tecidos e órgãos que constituem um organismo individual. Os dados experimentais sobre como uma substância tóxica que afeta a expressão gênica (transcriptômica), a produção de proteínas (proteômica) e o metabolismo de moléculas pequenas e a função (metabolômica) de uma espécie de teste (rato/camundongo, etc.) podem ser analisados em conjunto com os dados em seres humanos por meio de ferramentas computacionais de bioinformática para determinar padrões únicos ou preditivos de toxicidade.

REFERÊNCIAS

Boverhoff DR, Zacharewski TR: Toxicogenomics in risk assessment: applications and needs. *Toxicol Sci* 89:352–360, 2006.

Calabrese EJ, Blain R: The occurrence of hormetic dose responses in the toxicological literature, the hormesis database: an overview. *Toxicol Appl Pharmacol* 202:289–301, 2005.

Davila JC, Rodriguez RJ, Melchert RB, et al: Predictive value of in vitro model systems in toxicology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 38: 63–96, 1998.

Hayes AW (ed): *Principles and Methods of Toxicology*, 4th ed. New York: Taylor and Francis, 2001.

Kitchin KT (ed): *Carcinogenicity Testing: Predicting & Interpreting Chemical Effects*. New York: Marcel Dekker, 1999.

Tennant RW, Stasiewicz S, Mennear J, et al: Genetically altered mouse models for identifying carcinogens. *IARC Sci Publ* 146:123–150, 1999.

Walsh CT, Schwartz-Bloom RD, Levine RR: *Levine's Pharmacology: Drug Actions and Reactions*, 7th ed. London: Taylor and Francis, 2005.

Waters MD, Fostel JM: Toxicogenomics and systems toxicology: aims and prospects. *Nat Rev Genet* 5:936–948, 2004.

Williams PD, Hottendorf GH (eds): *Toxicological Testing and Evaluation*. Volume 2 in Sipes GI, McQueen CA, Gandolfi AJ (eds): *Comprehensive Toxicology*, New York: Pergamon Press, 1997.

QUESTÕES

1. Cinco animais experimentais idênticos são tratados com 1 mg de um dos seguintes toxicantes. Os animais tratados com qual toxicante terão maior probabilidade de morrer?
   a. Álcool etílico (DL_{50} = 10.000 mg/kg)
   b. Toxina botulínica (DL_{50} = 0,00001 mg/kg)
   c. Nicotina (DL_{50} = 1 mg/kg)
   d. Sulfato ferroso (DL_{50} = 1.500 mg/kg)
   e. Picrotoxina (DL_{50} = 5 mg/kg)

2. Coloque os seguintes mecanismos de distribuição do toxicante na ordem da mais eficaz para a menos eficaz – 1: intravenosa; 2: subcutânea; 3: oral; 4: inalatória; 5: dérmica.
   a. 1, 5, 2, 4, 3
   b. 4, 1, 2, 3, 5
   c. 1, 4, 2, 3, 5
   d. 4, 2, 1, 5, 3
   e. 1, 4, 3, 2, 5

3. Um toxicante com meia-vida de 12 h é administrado a cada 12 h. Qual das seguintes alternativas é verdadeira?
   a. O produto químico é eliminado do corpo antes de a próxima dose ser administrada.
   b. A concentração da substância química no organismo aumentará lentamente até que a concentração tóxica seja alcançada.
   c. O nível tóxico não será alcançado, independentemente de quantas doses sejam administradas.
   d. Uma exposição aguda à substância química irá produzir efeitos tóxicos imediatos.
   e. A taxa de eliminação do toxicante é muito mais curta do que o intervalo entre as doses.

4. O urushiol é uma toxina encontrada na hera venenosa. Em primeiro lugar, ela reage e combina-se com as proteínas da pele para que o sistema imune reconheça e elabore uma resposta contra ela. O urushiol é um exemplo de qual das seguintes opções?
   a. Antígeno
   b. Autoanticorpo
   c. Superantígeno
   d. Hapteno
   e. Citocina

5. Produtos químicos tóxicos são mais suscetíveis de ser biotransformados em qual dos seguintes órgãos?
   a. Sistema nervoso central
   b. Coração
   c. Pulmão
   d. Pâncreas
   e. Fígado

6. Quando os produtos químicos A e B são administrados simultaneamente, seus efeitos combinados são muito maiores do que a soma de seus efeitos quando administrados sozinhos. A interação química entre os produtos químicos A e B pode ser descrita como qual das seguintes?
   a. Potencialização
   b. Aditiva
   c. Antagônica
   d. Funcionalmente antagônica
   e. Sinérgica

7. Com respeito a relações dose-resposta, qual das seguintes afirmações é verdadeira?
   a. Relações dose-resposta graduadas são, muitas vezes, referidas como respostas "tudo ou nada".
   b. Relações dose-resposta quantais permitem a análise de uma resposta da população a diferentes dosagens.
   c. Relações quantais caracterizam a resposta de um indivíduo em diferentes dosagens.
   d. A dose-resposta quantal descreve a resposta de um organismo individual em diferentes doses de uma substância química.
   e. A dose-resposta sempre aumenta à medida que a dose é aumentada.

8. Ao considerar a relação dose-resposta para uma substância essencial:
   a. Raramente existem efeitos negativos na ingestão de muito.
   b. A curva é a mesma para todas as pessoas.
   c. Respostas adversas aumentam em severidade com aumento ou diminuição das dosagens fora da faixa homeostática.
   d. A relação é linear.
   e. A deficiência nunca irá causar mais danos do que a ingestão em excesso.

9. O índice terapêutico de um fármaco:
   a. É a quantidade de um fármaco necessária para curar uma doença.
   b. É mais baixa em fármacos que são relativamente mais seguros.
   c. Descreve a potência de um produto químico para provocar uma resposta desejada.
   d. Descreve a relação entre a dose tóxica e a dose terapêutica de um medicamento.
   e. Explica a mudança em resposta a um fármaco à medida que a dose é aumentada.

10. A penicilina interfere na formação de ligações cruzadas de peptidoglicano na parede celular bacteriana, enfraquecendo a parede celular e, por fim, causando a morte osmótica da bactéria. Qual das seguintes afirmativas é verdadeira?
   a. O tratamento com penicilina é um bom exemplo de toxicidade seletiva.
   b. A penicilina interfere na estrutura da membrana plasmática humana.
   c. A penicilina é um bom exemplo de fármaco com baixo índice terapêutico.
   d. A penicilina também é eficaz no tratamento de infecções virais.
   e. A penicilina é totalmente inofensiva para seres humanos.

CAPÍTULO

3

Mecanismos de Toxicidade

Zoltán Gregus

ETAPA 1– LIBERAÇÃO: DO SÍTIO DE EXPOSIÇÃO AO ALVO

Absorção *versus* eliminação pré-sistêmica

Absorção

Eliminação pré-sistêmica

Distribuição para o alvo e para longe do alvo

Mecanismos que facilitam a distribuição para o alvo

Mecanismos que dificultam a distribuição para o alvo

Excreção *versus* reabsorção

Excreção

Reabsorção

Intoxicação *versus* detoxificação

Intoxicação

Detoxificação

ETAPA 2– REAÇÃO DO TOXICANTE COM A MOLÉCULA-ALVO

Atributos das moléculas-alvo

Tipos de reações

Ligação não covalente

Ligação covalente

Abstração de hidrogênio

Transferência de elétrons

Reações enzimáticas

Efeitos dos toxicantes sobre as moléculas-alvo

Disfunção das moléculas-alvo

Destruição das moléculas-alvo

Formação de neoantígenos

Toxicidade não iniciada pela reação com moléculas-alvo

ETAPA 3– DISFUNÇÃO CELULAR E TOXICIDADE RESULTANTE

Desregulação celular induzida por toxicante

Desregulação da expressão gênica

Desregulação da atividade celular em progresso

Comprometimento da manutenção celular interna: mecanismos tóxicos da morte celular

Depleção de ATP

Aumento prolongado de Ca^{2+} intracelular

Interação entre alterações metabólicas primárias significa desastre celular

Transição de permeabilidade mitocondrial (MTP) e o pior resultado: necrose

Efeito alternativo da MTP: apoptose

A morte celular é determinada pela disponibilidade de ATP

ETAPA 4– REPARO OU FALHA NO REPARO

Reparo molecular

Reparo de proteínas

Reparo de lipídeos

Reparo do DNA

Reparo celular: uma estratégia em neurônios periféricos

Reparo tecidual

Apoptose: supressão ativa de células danificadas

Proliferação: regeneração do tecido

Reações adversas à lesão tecidual

Mecanismos de adaptação

Quando o reparo falha

Toxicidade resultante de falha no reparo

Necrose tecidual

Fibrose

Carcinogênese

CONCLUSÕES

PONTOS-CHAVE

- A toxicidade envolve a liberação do toxicante para o alvo ou alvos e interações com alvos moleculares endógenos que iniciam distúrbios na função e/ou na estrutura celular ou que podem iniciar mecanismos de reparo nos níveis molecular, celular e/ou tecidual.
- A biotransformação de produtos tóxicos é chamada de *toxificação* ou *ativação metabólica*.
- Biotransformações que eliminam o toxicante ou previnem sua formação são chamados de *detoxificação*.
- A apoptose, ou morte celular programada, é um processo rigidamente controlado e organizado pelo qual células individuais se quebram em pequenos fragmentos que são fagocitados por células adjacentes ou macrófagos sem produzir uma resposta inflamatória.
- O aumento prolongado de Ca^{2+} intracelular é danoso porque pode resultar em (1) depleção de reserva de energia pela inibição de ATPase usada na fosforilação oxidativa; (2) disfunção de microfilamentos; (3) ativação de enzimas hidrolíticas; e (4) geração de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio reativo e espécies de nitrogênio (ROS e RNS).
- A lesão celular progride para necrose celular (morte) se os mecanismos de reparo celular são ineficientes ou se o dano molecular não é facilmente reversível.
- A carcinogenicidade química envolve a função insuficiente de vários mecanismos de reparo, incluindo (1) falência do reparo do DNA; (2) falência da apoptose (morte celular programada); e (3) falência do término da proliferação celular.

Uma compreensão dos mecanismos de toxicidade fornece uma base racional para a interpretação descritiva dos dados de toxicidade. Os mecanismos celulares contribuem para a manifestação da toxicidade e são generalizados por relacionar uma série de eventos que se iniciam com a exposição, envolvem uma variedade de interações entre o toxicante e o organismo e culminam no efeito tóxico.

Como resultado de um enorme número de potenciais toxicantes e da variedade de estruturas biológicas e processos que podem ser comprometidos, existem muitas possibilidades que podem provocar toxicidade (Fig. 3.1). Em geral, o toxicante é liberado para o alvo, reage com ele, e a disfunção celular resultante manifesta-se em toxicidade. Algumas vezes, o xenobiótico não reage com a molécula-alvo específica, mas influencia de maneira adversa no ambiente biológico, causando disfunção nos órgãos, nas moléculas, nas organelas e células, produzindo efeitos deletérios.

A mais complexa via para a toxicidade envolve mais fases (Fig. 3.1). Primeiramente, o toxicante é liberado para o órgão-alvo ou alvos (etapa 1), interagindo com moléculas-alvo endógenas (etapa 2a) ou alterando o ambiente (etapa 2b), desencadeando perturbações na função e/ou na estrutura celular (etapa 3), as quais iniciam os mecanismos de reparo em nível molecular, celular e/ou em nível tecidual (etapa 4). Quando as perturbações induzidas pelo toxicante excedem a capacidade reparadora ou quando o reparo não funciona, a toxicidade ocorre. Necrose tecidual, câncer e fibrose são exemplos de toxicidade quimicamente induzida que seguem esse curso de quarta etapa.

ETAPA 1– LIBERAÇÃO: DO SÍTIO DE EXPOSIÇÃO AO ALVO

Teoricamente, a intensidade do efeito tóxico depende da concentração e da persistência do toxicante no sítio de ação. O toxicante é uma espécie química que reage com o alvo molecular endógeno ou altera de forma significativa o ambiente biológico, iniciando as alterações estruturais e funcionais, resultando em toxicidade. O toxicante pode ser um composto químico original ao qual o organismo é exposto (composto parental), um metabólito ou espécies reativas de oxigênio ou de nitrogênio (ROS ou RNS) geradas durante a biotransformação do toxicante, ou uma molécula endógena.

A concentração do toxicante na molécula-alvo depende da eficácia relativa no processo que aumenta ou diminui sua concentração no sítio-alvo (Fig. 3.2). O aumento da concentração é facilitado pela absorção, distribuição no sítio de ação, reabsorção e toxificação, enquanto a eliminação pré-sistêmica, a distribuição para fora do sítio de ação, a excreção e a detoxificação diminuem a concentração do toxicante no alvo.

Absorção *versus* eliminação pré-sistêmica

Absorção A transferência do composto químico do sítio de exposição, geralmente para a superfície corpórea interna ou externa, para dentro da circulação sistêmica é chamada de *absorção*. Fatores que influenciam a absorção incluem concentração, área de superfície da exposição, características da camada epitelial através da qual o toxicante está sendo absorvido e, em geral, o mais importante, a solubilidade lipídica, pois moléculas lipossolúveis são absorvidas mais facilmente para o interior das células.

Eliminação pré-sistêmica Durante a transferência do sítio de exposição para a circulação sistêmica, os toxicantes podem ser eliminados. Isso é comum para compostos químicos absorvidos pelo sistema digestório, porque eles podem passar pelas células da mucosa gastrintestinal, pelo fígado e pelo pulmão antes de serem distribuídos para o resto do organismo pela circulação sistêmica. A mucosa do sistema digestório e o fígado podem eliminar uma fração significante do toxicante durante a passagem pelos

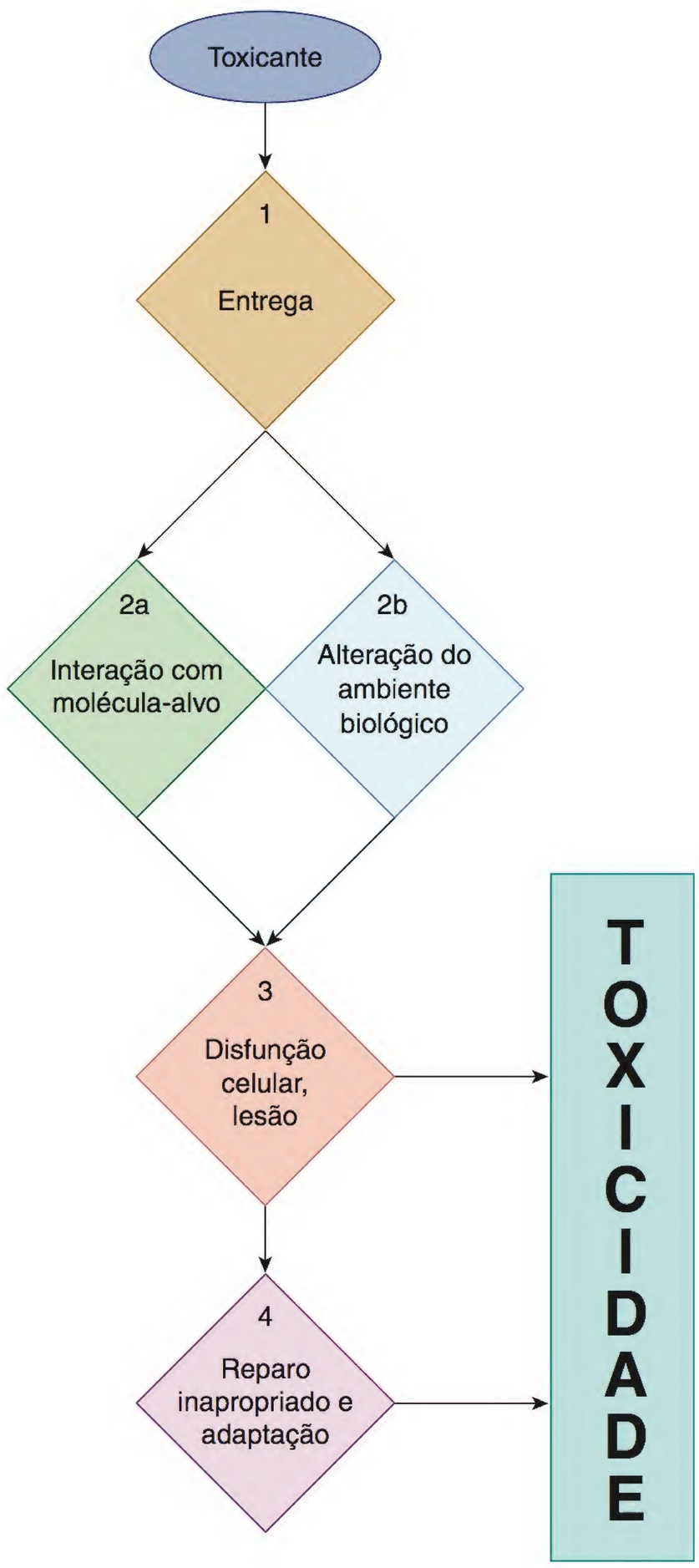


FIGURA 3.1 Estágios potenciais no desenvolvimento da toxicidade após exposição ao composto químico.

tecidos. A eliminação pré-sistêmica, ou de primeira passagem, geralmente reduz os efeitos tóxicos de compostos químicos que alcançam os sítios-alvo pela circulação sistêmica, mas podem contribuir para a lesão da mucosa digestiva, do fígado e dos pulmões, porque esses processos promovem liberação do toxicante para esses sítios.

Distribuição para o alvo e para longe do alvo

Toxicantes saem do sangue durante a fase de distribuição, entram no espaço extracelular e alcançam o sítio ou sítios de ação, geralmente uma macromolécula na superfície ou no interior de um tipo específico de célula. Compostos químicos também podem ser distribuídos para o sítio ou sítios da ação tóxica,

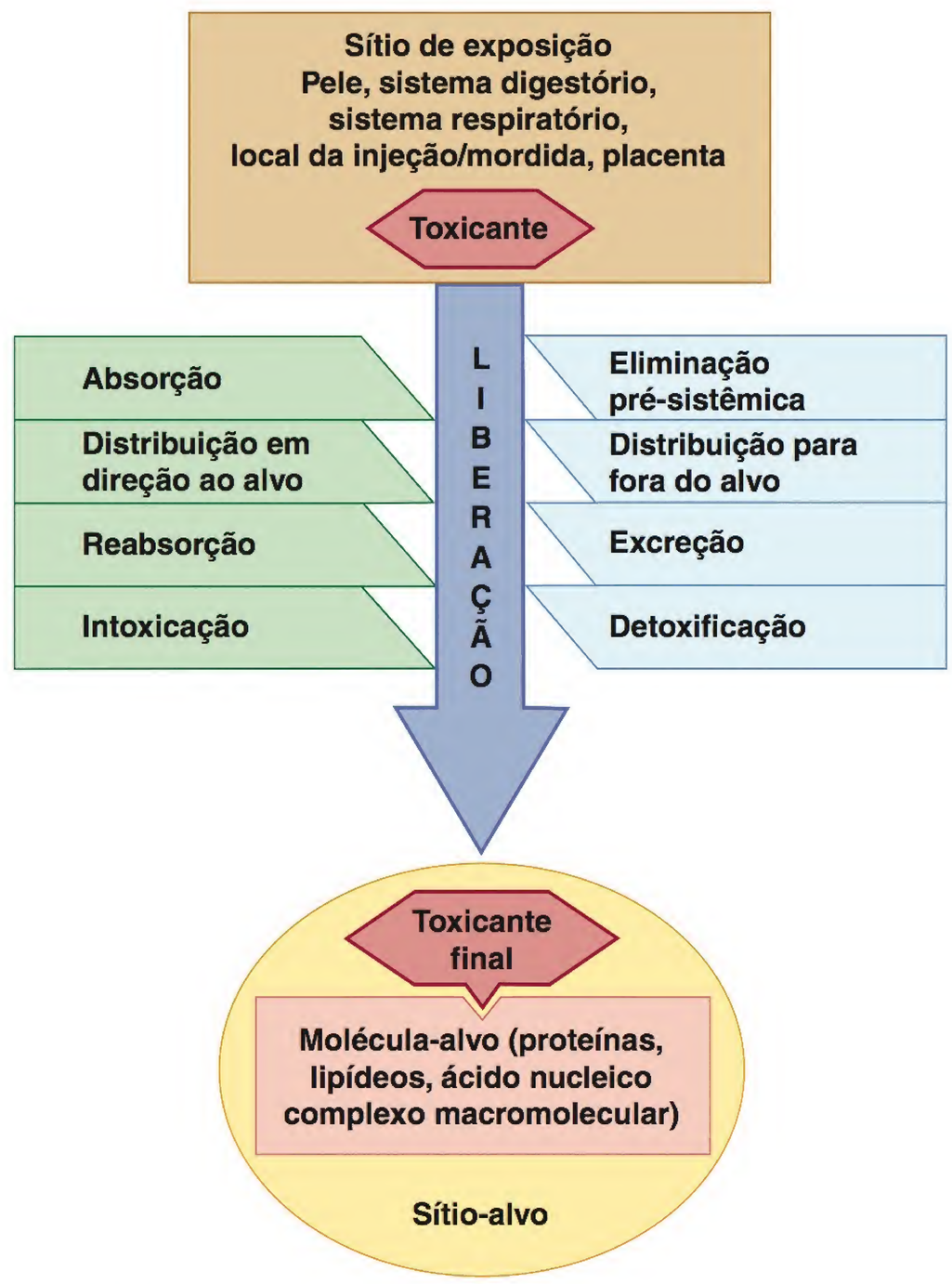


FIGURA 3.2 O processo da liberação do toxicante no primeiro passo no desenvolvimento da toxicidade. A liberação – que é o movimento do toxicante do sítio de exposição para o sítio de ação em uma forma ativa – é promovida pela lista de processos descrita no lado esquerdo e oposta pelos eventos indicados no lado direito.

em geral uma enzima intracelular, na qual o toxicante é formado por meio da biotransformação.

Mecanismos que facilitam a distribuição para o alvo

Porosidade do endotélio capilar Células endoteliais dos sinusoides hepáticos e dos capilares peritubulares renais têm grandes frestas (50 a 150 nm de diâmetro), que permitem até a passagem de proteínas ligadas a xenobióticos. Isso favorece o acúmulo de compostos químicos no fígado e nos rins.

Transporte especializado através da membrana plasmática Canais de íons especializados e transportadores de membranas podem contribuir para a liberação de toxicantes nos alvos intracelulares. Canais de Na^+, K^+-ATPase, Ca^{+2} dependentes de voltagem, absorção mediada por carreador, endocitose e reciclagem da membrana facilitam a entrada de toxicantes nas células específicas, transformando-as em células-alvo. A endocitose de alguns complexos proteína-toxicante ocorre também em algumas células.

Acumulação em organelas celulares Xenobióticos anfipáticos com um grupo de amina protonável e caráter lipofílico acumu-

lam-se em lisossomas como também em mitocôndrias. A acumulação lisossomal ocorre pela captura do pH, isto é, pela difusão da amina na forma não protonada para o interior ácido da organela, no qual a amina é protonada, prevenindo seu efluxo, de modo a prejudicar a degradação fosfolipídica. A acumulação mitocondrial ocorre eletroforeticamente. A amina é protonada no espaço intermembrana e, então, sugada para dentro do espaço da matriz por uma força de potencial negativo (-220 mV), no qual pode prejudicar a β-oxidação e a fosforilação oxidativa.

Ligação reversível intracelular Compostos químicos como cátions orgânicos e inorgânicos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos acumulam-se em células contendo melanina por ligação à melanina.

Mecanismos que dificultam a distribuição para o alvo

Ligação com proteínas plasmáticas A maioria dos xenobióticos deve se dissociar das proteínas, a fim de sair do sangue e entrar nas células. Portanto, fortes ligações às proteínas plasmáticas atrasam e prolongam os efeitos e a eliminação dos toxicantes.

Barreiras especializadas A ausência de frestas nos capilares de neurônios, os quais estão unidos por junções extremamente apertadas, previnem o acesso de compostos químicos hidrofílicos para o cérebro, exceto pelo transporte ativo. Células espermatogênicas são cercadas por células de Sertoli, que são unidas para formar a barreira sangue-testículo. A transferência de toxicantes hidrofílicos através da placenta também é restrita, porém, nenhumas dessas barreiras é efetiva contra substâncias lipofílicas.

Distribuição dos sítios de armazenamento Alguns compostos químicos se acumulam em tecidos (i.e., sítios de armazenamento) nos quais não exercem efeito significativo. Tal armazenamento diminui a disponibilidade dos toxicantes para os sítios-alvo.

Associação com proteínas ligantes intracelulares A ligação a sítios intracelulares não específicos, como à metalotioneína, reduz temporariamente a concentração de toxicantes no sítio de ação.

Liberação a partir de células Toxicantes intracelulares podem ser transportados de volta para o espaço extracelular. A família transportadora de membrana ATP-dependente, conhecida como proteínas multidrogas resistentes (mdr), expulsam os compostos das células.

Excreção *versus* reabsorção

Excreção Excreção é a remoção de xenobióticos do sangue e seu retorno para o ambiente externo. A excreção é um mecanismo físico, enquanto a biotransformação é um mecanismo químico para a eliminação do toxicante.

A rota e a velocidade de excreção dependem das propriedades físico-químicas do toxicante. Os principais órgãos de excreção – rins e fígado – removem de maneira eficiente compostos altamente hidrofílicos, como ácidos e bases.

Não existem mecanismos de eliminação eficientes para compostos químicos não voláteis, altamente lipofílicos. Se resistentes à biotransformação, esses agentes químicos são eliminados muito devagar e tendem a acumular-se no corpo após exposições repetidas. Três processos um tanto ineficientes estão disponíveis para a eliminação de tais compostos: (1) excreção pelas glândulas mamárias e pelo leite; (2) excreção biliar; e (3) excreção para o lúmen intestinal a partir do sangue. Toxicantes voláteis não reativos, como gases e líquidos voláteis, difudem-se dos capilares pulmonares para o interior dos alvéolos e são exalados.

Reabsorção Toxicantes liberados para o interior dos túbulos renais podem ser difundidos de volta por meio das células tubulares para os capilares peritubulares. Essa reabsorção do fluido tubular aumenta a concentração intratubular, bem como o tempo de residência do composto químico pela diminuição do fluxo urinário. A reabsorção pela difusão é dependente da solubilidade lipídica do composto e inversamente relacionada com a intensidade da ionização, porque as moléculas não ionizadas são mais lipossolúveis.

Toxicantes liberados para o sistema digestório pela excreção biliar, gástrica e intestinal e secreção por glândulas salivares e exócrinas pancreáticas podem ser reabsorvidos por difusão pela mucosa intestinal. A reabsorção de compostos excretados na bile é possível somente se eles forem suficientemente lipofílicos ou forem convertidos para formas lipossolúveis no lúmen intestinal.

Toxificação *versus* detoxificação

Intoxicação A biotransformação para produtos danosos é chamada de *toxificação* ou *ativação metabólica*. Com alguns xenobióticos, a *toxificação* confere propriedades físico-químicas que alteram de forma adversa o microambiente de processos ou estruturas biológicas. Algumas vezes, compostos químicos adquirem características estruturais e reatividade por biotransformação, que permite uma interação mais eficiente com receptores específicos ou enzimas. A maioria da toxificação causada por xenobióticos e, às vezes, por outras moléculas do organismo, como óxido nítrico, reage indiscriminadamente com moléculas endógenas com grupos funcionais suscetíveis. Esse aumento da reatividade pode ser devido à conversão em (1) eletrófilos; (2) radicais livres; (3) nucleófilos; ou (4) reagentes redox-ativo. A maioria dos metabólitos reativos é molécula elétron deficiente e fragmentos moleculares, como eletrófilos e radicais livres catiônicos ou neutros. Alguns nucleófilos são reativos (p. ex., HCN e CO).

Detoxificação Biotransformações que eliminam o toxicante ou previnem a formação desses toxicantes são chamadas de *detoxificações*. Em alguns casos, a detoxificação pode competir com a toxificação.

Detoxificação de toxicantes sem grupos funcionais Em geral, compostos químicos sem grupos funcionais, como o benzeno e o tolueno, são detoxificados em duas fases. Inicialmente, um grupo funcional como hidroxila e carboxila é introduzido na molécula, e, então, um ácido endógeno, como o ácido glicurônico, o ácido sulfúrico, ou um aminoácido, é adicionado ao grupo funcional por transferases. Com algumas exceções, os produtos finais são inativos, ácidos orgânicos altamente hidrofílicos que são rapidamente excretados.

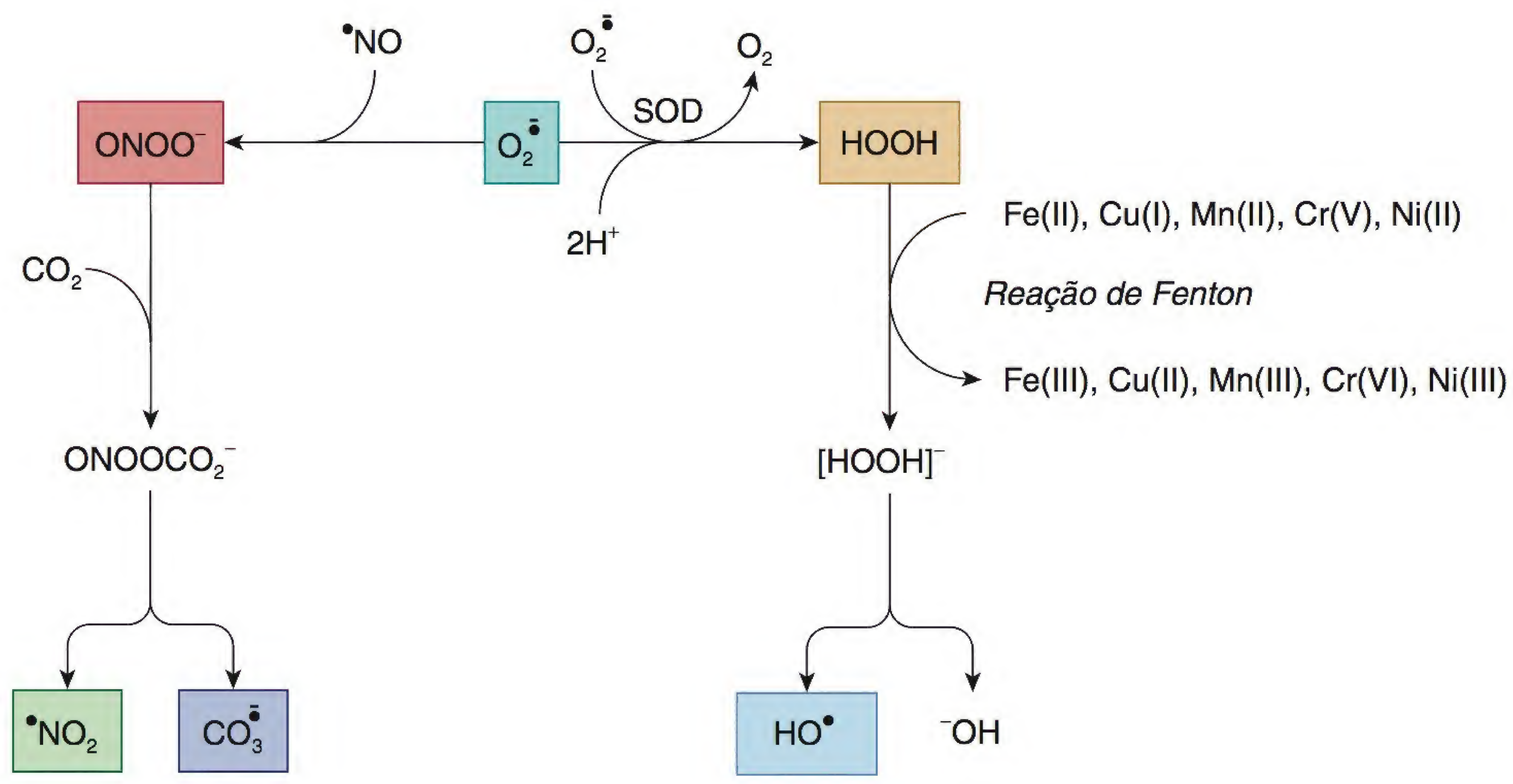


FIGURA 3.3 Duas etapas para toxificação do radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) via produtos não radicalares ($ONOO^-$ e HOOH) para produtos radicalares ($•NO_2$, $CO_3^{\bullet-}$ e HO•). Em uma etapa, a conversão de ($O_2^{\bullet-}$) para HOOH é espontânea ou catalisada pela SOD. A clivagem do HOOH para radical hidroxila e íon hidroxila é chamada de reação de Fenton, e é catalisada por íons metálicos de transição apresentados. A formação do radical hidroxila é um toxicante final para xenobióticos que formam $O_2^{\bullet-}$ ou para HOOH, íons metálicos de transição listados e alguns compostos químicos que formam complexos com esses íons metálicos de transição. Em outra via, o $O_2^{\bullet-}$ reage avidamente com o óxido nítrico (•NO), o produto de •NO sintase (NOS), formando peroxinitrito ($ONOO^-$). A reação espontânea de $ONOO^-$ com dióxido de carbono (CO_2) produz carbonato nitrosoperoxi ($ONOOCO_2^-$), que é homoliticamente clivado a dióxido de nitrogênio ($•NO_2$) e radical ânion carbonato ($CO_3^{\bullet-}$). Todos os três produtos radicalares indicados nesta figura são oxidantes, e o $•NO_2$ é também um agente nitrante.

Detoxificação de nucleófilos Nucleófilos geralmente são detoxificados pela conjugação do grupo funcional nucleofílico, prevenindo a conversão catalisada por peroxidase dos nucleófilos para radicais livres e biotransformação dos fenóis, aminofenóis, catecóis e hidroquinonas para quininas eletrofílicas e quinoneiminas.

Detoxificação de eletrófilos Geralmente, a detoxificação de eletrofílos envolve a conjugação com glutationa nucleófila. Essa reação pode ocorrer de forma espontânea ou pode ser facilitada pela glutationa-S-transferase. A ligação covalente dos eletrófilos a proteínas pode ser considerada detoxificação, desde que a proteína não tenha função crítica e não se torne um neoantígeno ou outro composto prejudicial.

Detoxificação de radicais livres Como o $O_2^{\bullet-}$ pode ser convertido em compostos muito mais reativos (Fig. 3.3), sua eliminação é um importante mecanismo de detoxificação. A superóxido dismutase (SOD), localizada no citosol (Cu, Zn-SOD) e na mitocôndria (Mn-SOD), converte o $O_2^{\bullet-}$ para HOOH (Fig. 3.4). Posteriormente, o HOOH é reduzido a água pela glutationa peroxidase citosólica ou pela catalase peroxissomal (Fig. 3.4).

Nenhuma enzima elimina HO• devido a sua meia-vida extremamente curta (10^{-9}s). A única proteção efetiva contra HO• é prevenir sua formação pela conversão do seu precursor, HOOH, à água (Fig. 3.4).

O peroxinitrito ($ONOO^-$), que não é um oxidante radical livre, é muito mais estável do que a HO• e reage rapidamente com CO_2 para formar radicais livres reativos (Fig. 3.3). A glutationa peroxidase pode reduzir o $ONOO^-$ para nitrito (ONO^-). Além

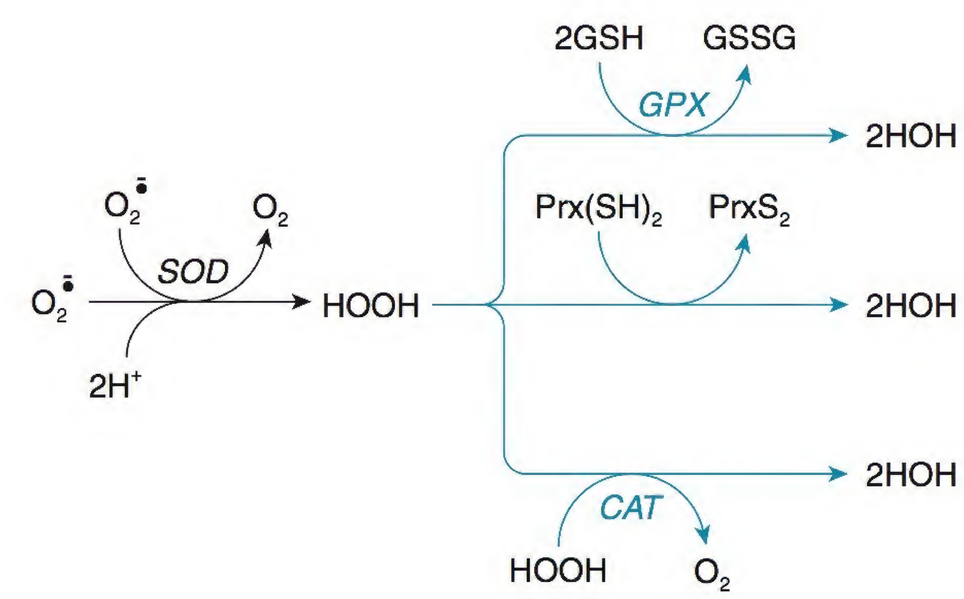


FIGURA 3.4 Detoxificação do radical ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$) pela superóxido dismutase (SOD), glutationa peroxidase (GPX) e catalase (CAT).

disso, o $ONOO^-$ reage com a oxiemoglobina, peroxidases contendo heme e albumina, as quais podem ser importantes atraentes de $ONOO^-$. Ainda, a eliminação de dois precursores de $ONOO^-$ – isto é, •NO pela reação com oxiemoglobina e $O_2^{\bullet-}$ pela SOD – é um mecanismo importante na prevenção de acúmulo de $ONOO^-$.

Radicais livres gerados pela peroxidase são eliminados pela transferência de elétron da glutationa. Isso resulta na oxidação da glutationa, a qual é revertida pela glutationa redutase NADPH-dependente (Fig. 3.5). Assim, a glutationa desempe-

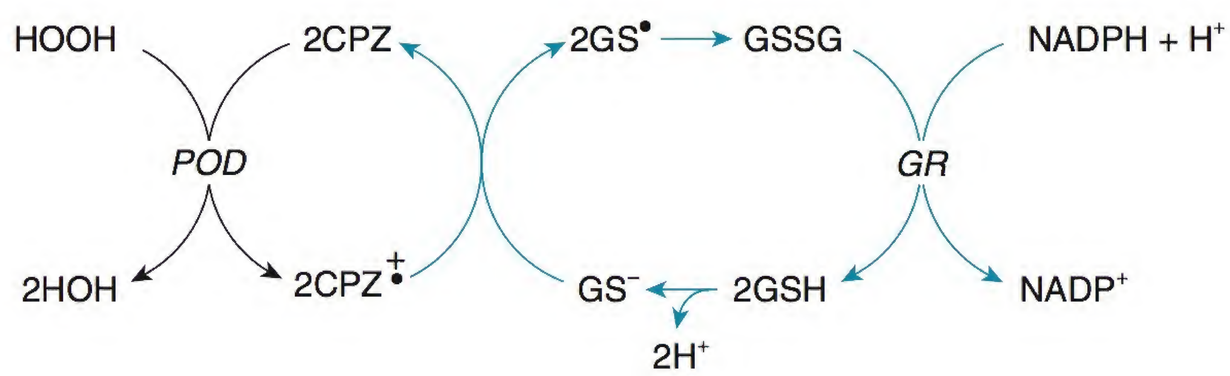


FIGURA 3.5 Detoxificação da peroxidase (POD) – gerada por radicais livres como radical livre da clorpromazina ($CPZ^{\bullet +}$) pela glutationa (GSH). Os subprodutos são radical til glutationa ($GS^{\bullet}$) e glutationa oxidada (GSSG), a partir da qual a GSH é regenerada pela glutationa redutase (GR).

nha um papel importante na detoxificação de ambos, eletrófilos e radicais livres.

Detoxificação de proteínas toxinas Proteases extras e intracelulares estão envolvidas na inativação de polipeptídeos tóxicos. Toxinas venenosas, como α e β-bungaratoxina, erabutoxina e fosfolipase, perdem sua atividade quando a tioredoxina reduz a ligação dissulfida essencial.

Quando a detoxificação falha A detoxificação pode ser insuficiente quando o toxicante sobrepuja o processo de detoxificação, um toxicante reativo inativa uma enzima detoxificante, a detoxificação é revertida após a transferência para outros tecidos ou quando subprodutos danosos são gerados pelo processo de detoxificação.

ETAPA 2 – REAÇÃO DO TOXICANTE COM A MOLÉCULA-ALVO

A toxicidade costuma ser mediada pela reação de um toxicante com a molécula-alvo (etapa 2a na Fig. 3.1). Subsequentemente, ocorre uma série de eventos bioquímicos secundários, levando a uma disfunção ou a um dano que se manifesta em vários níveis da organização biológica, como na molécula-alvo em si, em organelas celulares, nas células, nos tecidos, nos órgãos e, até mesmo, no organismo como um todo.

Atributos das moléculas-alvo

Praticamente todos os compostos endógenos são potenciais alvos para os toxicantes. Os alvos mais prevalentes e toxicologicamente relevantes são os ácidos nucleicos (principalmente o DNA), as proteínas e as membranas. O primeiro alvo para os metabólitos reativos, muitas vezes, é a enzima responsável por sua produção ou as estruturas intracelulares adjacentes. Nem todos os alvos de compostos químicos contribuem para efeitos nocivos. Ligações covalentes com as proteínas sem consequências adversas podem até representar uma maneira de detoxificação poupando alvos toxicologicamente relevantes. Para identificar de forma conclusiva a molécula-alvo como a responsável pela toxicidade, deve ser demonstrado que o toxicante (1) reage com o alvo e afeta negativamente sua função; (2) alcança uma concentração efetiva no sítio-alvo; e (3) altera o alvo de maneira mecanisticamente relacionada à toxicidade observada.

Tipos de reações

O toxicante pode ligar-se às moléculas-alvo de forma não covalente ou covalente e pode alterá-las por abstração de hidrogênio, transferência de elétrons ou enzimaticamente.

Ligação não covalente Interações apolares ou formação de pontes de hidrogênio e ligações iônicas costumam estar envolvidas na interação do toxicante com alvos como receptores de membranas, receptores intracelulares, canais iônicos e algumas enzimas. A ligação não covalente é, em geral, reversível devido à energia de ligação ser relativamente baixa.

Ligação covalente Praticamente irreversível, a ligação covalente altera de forma permanente as moléculas endógenas. A formação de um aduto covalente é comum com toxicantes eletrofílicos, como os eletrófilos não iônicos e catiônicos e cátions radicalares. Esses toxicantes reagem com átomos nucleofílicos que estão abundantes nas macromoléculas biológicas, como as proteínas e os ácidos nucleicos. Radicais livres neutros como $HO^{\bullet}$, $^{\bullet}NO_2$, e $Cl_3C^{\bullet}$ também podem ligar-se covalentemente com biomoléculas.

Abstração de hidrogênio Radicais livres neutros podem instantaneamente abstrair átomos de H de compostos endógenos, convertendo esses compostos em radicais. Radicais também podem remover o H de grupos CH_2 de aminoácidos livres ou de resíduos de aminoácidos de proteínas e convertê-las em carbonilas, formando ligações cruzadas com o DNA ou outras proteínas.

Transferência de elétrons Compostos químicos podem trocar elétrons por oxidar ou reduzir outras moléculas, produzindo a formação de produtos secundários danosos. Por exemplo, compostos químicos podem oxidar Fe(II) na hemoglobina para Fe(III), produzindo metemoglobinemia.

Reações enzimáticas Poucas toxinas agem enzimaticamente sobre proteínas-alvo específicas. A toxina da difteria, por exemplo, bloqueia a função do fator 2 de elongação na síntese proteica, e a toxina da cólera ativa a proteína G por meio desse mecanismo.

Em resumo, a maioria dos toxicantes age sobre moléculas endógenas com base na reatividade química. Aqueles com mais de um tipo de reatividade podem reagir por diferentes mecanismos com várias moléculas-alvo.

Efeitos dos toxicantes sobre as moléculas-alvo

Disfunção das moléculas-alvo Alguns toxicantes ativam moléculas-alvo proteicas, simulando ligantes endógenos. É comum os compostos químicos inibirem a função da molécula-alvo, bloqueando receptores de neurotransmissores ou canais iônicos, inibindo enzimas e interferindo com a dinâmica do citoesqueleto.

A função proteica é comprometida quando a conformação ou a estrutura é alterada pela interação com o toxicante. Muitas proteínas têm pontos críticos que são essenciais para a atividade catalítica ou para a formação de complexos macromoleculares. A modificação covalente e/ou oxidativa desses pontos por xenobióticos pode causar transdução de sinal aberrantes e/ou comprometer a manutenção da energia celular e a homeostase metabólica. Toxicantes podem, também, interferir na função-modelo do DNA. A ligação covalente de compostos químicos ao DNA causa um erro de pareamento dos nucleotídeos durante a replicação.

Destruição das moléculas-alvo Com relação à formação dos adutos, toxicantes alteram a estrutura endógena primária de moléculas por ligação cruzada e fragmentação. A ligação cruzada impõe restrições funcionais e estruturais para as moléculas ligadas.

Outras moléculas-alvo são suscetíveis à degradação espontânea após ataque químico. Radicais livres como $Cl_3COO^{\bullet}$ e $HO^{\bullet}$ podem iniciar a degradação peroxidativa de lipídeos pela abstração de hidrogênio dos ácidos graxos, destruindo, assim, lipídeos nas membranas celulares e também gerando radicais lipídicos endógenos e eletrófilos, os quais podem lesar a estrutura do DNA. Os toxicantes causam várias formas de fragmentação de DNA, como, por exemplo, o ataque a múltiplos radicais hidroxilas em um fragmento curto do DNA, que ocorre após radiação ionizante, causando quebra da dupla fita, que é, em geral, letal para a célula afetada.

Formação de neoantígenos Ligações covalentes de xenobióticos ou de seus metabólitos com proteínas podem desencadear uma resposta imune. Alguns compostos químicos (p. ex., dinitroclorobenzeno, penicilina e níquel) se ligam às proteínas espontaneamente, outros obtêm reatividade pela auto-oxidação de quinonas (p. ex., urushiols, os alérgenos do veneno de hedera) ou por biotransformação enzimática.

Toxicidade não iniciada pela reação com moléculas-alvo

Alguns xenobióticos alteram o microambiente biológico (etapa 2b na Fig. 3.1) produzindo uma resposta tóxica. Incluídos aqui estão (1) agentes químicos que alteram as concentrações de íon H^+ na biofase aquosa; (2) solventes e detergentes que físico-quimicamente alteram a fase lipídica da membrana celular e destroem gradiente de solutos transmembrana; e (3) xenobióticos que causam lesão meramente pela ocupação de um sítio ou de um espaço.

ETAPA 3 – DISFUNÇÃO CELULAR E TOXICIDADE RESULTANTE

Reações de toxicantes com a molécula-alvo podem resultar no comprometimento da função celular como terceira etapa no desenvolvimento da toxicidade (Figs. 3.1 e 3.6). Cada célula em um organismo multicelular executa programas definidos; alguns deles determinam se as células sofrem divisão, diferenciação ou apoptose. Outros programas controlam a atividade contínua (momentânea) das células diferenciadas. Para regulação desses programas celulares, as células dispõem de uma rede de sinalização, que pode ser ativada e inativada por moléculas sinalizadoras externas.

Conforme descrito na Figura 3.6, a natureza da disfunção celular primária causada por substâncias tóxicas, mas não necessariamente o resultado final, depende do papel da molécula-alvo afetada. A reação do toxicante com os alvos que servem de funções externas pode influenciar na operação de outras células e sistemas de órgãos integrados. No entanto, se a molécula-alvo está envolvida predominantemente na manutenção interna das células, o resultado da disfunção pode, em último instante, comprometer a sobrevivência da célula.

Desregulação celular induzida por toxicante

Células são reguladas por moléculas sinalizadoras que ativam receptores celulares específicos ligados à rede de transdução de sinal que transmite os sinais para regiões reguladoras dos genes e/ou proteínas funcionais. A ativação do receptor deve, basicamente, produzir uma alteração na expressão do gene e/ou na modificação química de proteínas específicas, em geral pela fosforilação. Programas que controlam o destino das células afetam primeiramente a expressão genética, enquanto os que regulam as atividades em andamento influenciam a atividade de proteínas funcionais. No entanto, um sinal, muitas vezes, produz ambas as respostas, por causa da ramificação e interligação de redes de sinalização.

Desregulação da expressão gênica A desregulação da expressão gênica pode ocorrer em elementos que são diretamente responsáveis pela transcrição, em componentes da via de transdução de sinal intracelular e na síntese, armazenamento, ou liberação de moléculas sinalizadoras extracelulares.

Desregulação da transcrição A transcrição da informação genética do DNA para mRNA é controlada extensivamente pela interação entre fatores de transcrição (TFs) e a região reguladora ou promotora dos genes. Xenobióticos podem interagir com a região promotora do gene, os TFs, ou com outros componentes do complexo de iniciação da transcrição. No entanto, a ativação alterada dos TFs parece ser a modalidade mais comum.

Muitos compostos naturais, como hormônios e vitaminas, influenciam a expressão genética pela ligação e ativação dos TFs. Enquanto xenobióticos podem mimetizar os ligantes na-

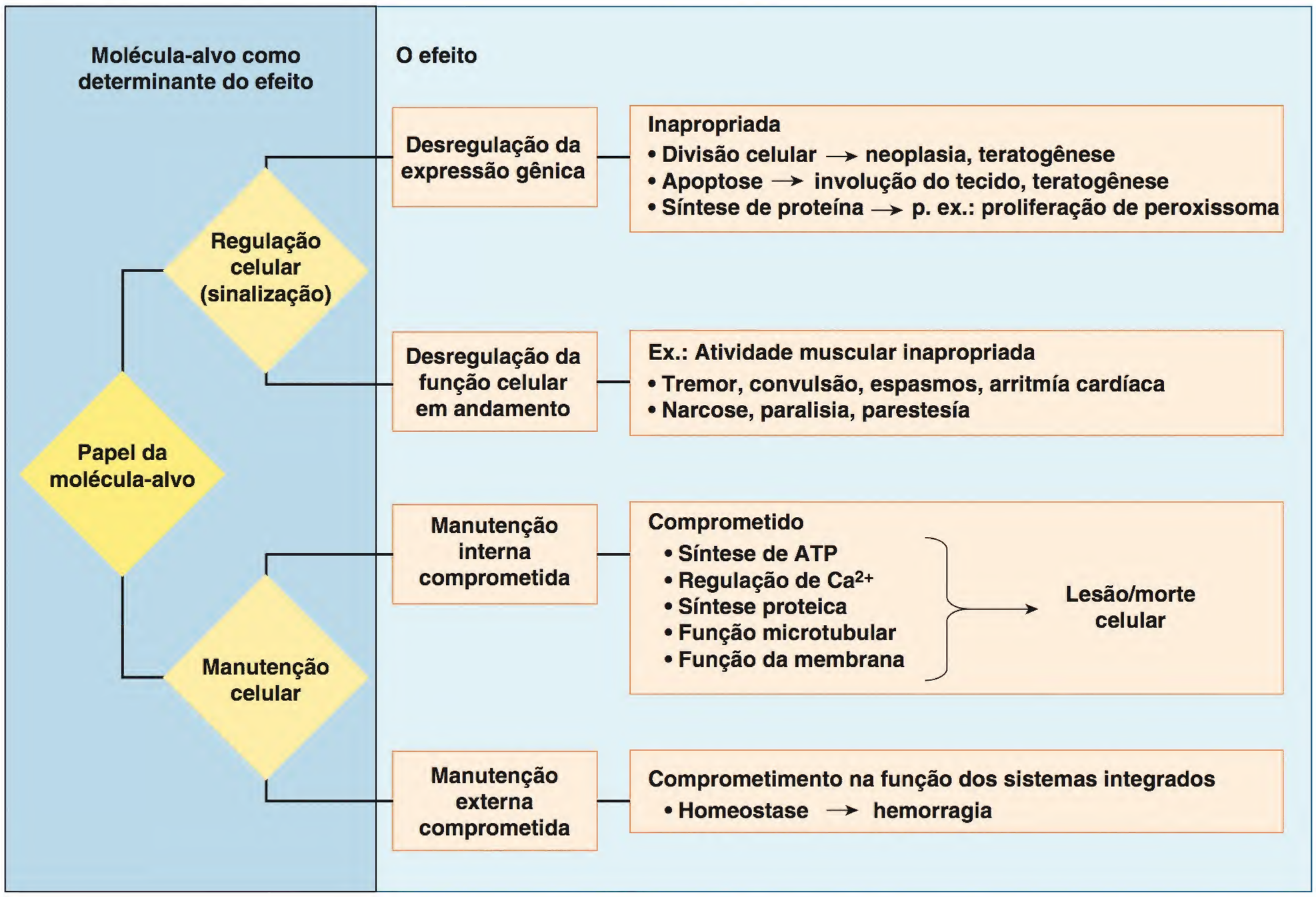


FIGURA 3.6 Terceira etapa no desenvolvimento da toxicidade: alteração da função reguladora ou de manutenção da célula.

turais, ambos podem causar toxicidade quando administrados em doses extremas ou em períodos críticos durante a ontogênese. Outros compostos que agem sobre os TFs podem também mudar o padrão de diferenciação celular pela superexpressão de vários genes.

Xenobióticos podem, também, desregular a transcrição alterando as regiões reguladoras dos genes e promotor de metilação.

Desregulação da transdução de sinal Moléculas sinalizadoras extracelulares, tais como fatores de crescimento, citocinas, hormônios e neurotransmissores, podem ativar TFs utilizando receptores da superfície celular e redes de transdução de sinal intracelular. A Figura 3.7 esquematiza tais redes e identifica alguns dos mais importantes TFs ativados por sinal que controlam a atividade transcricional dos genes que influenciam a progressão do ciclo celular e, assim, determinam o destino de células. Um exemplo é a proteína c-Myc, que, após dimerização com a proteína Max e ligação com sua sequência de nucleotídeos cognato, transativa genes de ciclina D e E. As ciclinas, por sua vez, aceleram o ciclo de divisão celular pela ativação de proteínas quinase ciclina-dependentes, as quais estão envolvidas na regulação do ciclo celular. Moléculas de sinalização mitogênicas induzem a proliferação celular.

O sinal dos receptores de superfície celular para os TFs é transmitido por sucessivas interações proteína-proteína e fosforilações proteicas, que ocorrem quando uma molécula sinalizadora fosforila outra proteína como a quinase ativada por mitógeno (MAPK), que ativa aquela proteína para fosforilar e ativar outra. Por exemplo, ligantes induzem receptores de fatores de crescimento (item 6 na Fig. 3.7) sobre a superfície de todas as células para se autofosforilar, e esses receptores fosforilados, em seguida, ligam-se a proteínas adaptadoras pelas quais eles ativam Ras. O Ras ativo inicia a cascata da MAPK, envolvendo uma série de fosforilações de proteínas quinases, que, por fim, alcançam os TFs. Esses transdutores de sinais são, normalmente, ativados pela fosforilação catalisada por proteínas quinase e são, em geral, inativados pela desfosforilação realizada por fosfatases proteicas.

Compostos químicos podem causar transdução anômala de sinal, na maioria das vezes, pela alteração na fosforilação proteica, e algumas vezes pela interferência com a atividade GTPase das proteínas G, rompendo interações normais proteína-proteína ou estabelecendo uma interação anormal, ou pela alteração da síntese ou degradação da sinalização de proteínas. Tais intervenções acabam influenciando a progressão do ciclo celular.

Transdução de sinal quimicamente alterado com efeito proliferativo: xenobióticos que facilitam a fosforilação por transdutores de sinais frequentemente promovem mitose e formação de tumor. Os ésteres forbol e fumonisina B ativam a proteína quinase C (PKC) mimetizando diacilglicerol (DAG), um dos ativadores fisiológicos de PKC (Fig. 3.7). Outro ativador de PKC fisiológico, o Ca^{2+}, é mimetizado por Pb^{2+}. A PKC ativada promove sinalização mitogênica pelo início de uma cascata que ativa outras quinases e permite que certos TFs se liguem ao DNA. Proteínas quinases podem, também, ser ativadas interagindo com proteínas que foram alteradas por xenobióticos.

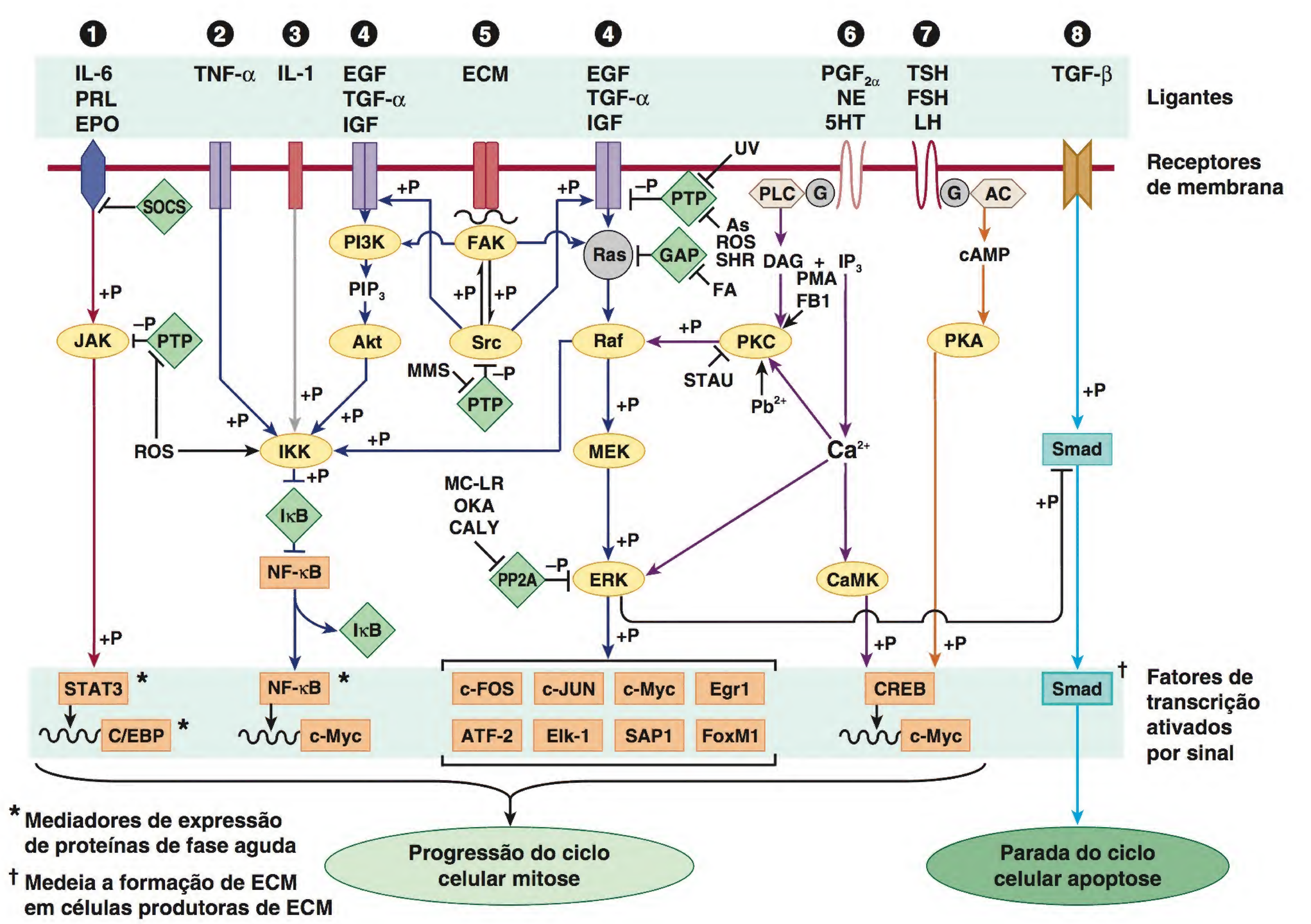


FIGURA 3.7 Vias de sinalização de transdução desde os receptores de membrana até os fatores de transcrição nucleares ativados por sinal que influenciam a transcrição de genes envolvidos na regulação do ciclo celular. Os símbolos dos receptores de membrana estão numerados de 1 a 8, e alguns dos seus ligantes ativadores estão indicados. Círculos representam proteínas G; os símbolos ovais são proteínas quinases; retângulos são fatores de transcrição; as linhas onduladas são genes; e os símbolos em forma de diamantes são proteínas inibitórias, como proteínas fosfatases (PTP e PP2A), a proteína que ativa GTPase GAP e a proteína de ligação inibitória IkB. As cabeças de seta indicam estímulo ou formação de mensageiros secundários (p. ex., DAG, IP_3, cAMP e Ca^{2+}), enquanto setas com ponta cega indicam inibição. Fosforilação e desfosforilação são indicadas por +P e –P, respectivamente. Abreviações para compostos químicos interferentes estão impressos em negrito (As = arsênito; CALY = caliculina A; FA = ácido graxos; FB1 = fumonisina B; MC-LR = microcistina-LR; OKA = ácido okadaico; MMS = sulfonato de metilmetano; PMA = forbol meristato acetato; ROS = espécies reativas de oxigênio; SHR = químicos reativos a SH, como as iodocetamidas; STAU = staurosporina). No centro da rede retratada, está a via que é ativada por fatores de crescimento, como EGF, que atua em receptores tirosina quinase (#6), que utiliza proteínas adaptadoras (Shc, Grb2 e SOS; não conhecido) para converter o Ras ligado ao GDP inativo para a forma ligada ao GTP ativo, que, por sua vez, ativa a cascata de fosforilação da MAP quinase (Raf, MAPKK e MAPK). A MAPK fosforilada move-se para o núcleo e fosforila fatores de transcrição, permitindo, assim, que estes se liguem a sequências cognatas nas regiões promotoras do gene para facilitar a transcrição. Há numerosas interconexões entre as vias de sinalização de transdução. Algumas dessas conexões permitem o uso do receptor de fator de crescimento (#6)-MAPK "alta via" para outros receptores (p. ex., 4, 5 e 7) para enviar sinais mitogênicos. Por exemplo, o receptor (#4) junta-se na via sua subunidade β/γ da proteína G e Src tirosina quinase; o receptor da integrina (#5), cujos ligantes são constituídos de matriz extracelular (ECM), possivelmente se conecta a via Rho proteína G (não mostrado) e à quinase de adesão focal (FAK); e o receptor acoplado à proteína G (#7), via formação catalisada por fosfolipase C (PLC) de mensageiros secundários e ativação de proteína quinase (PKC). O estímulo mitogênico retransmitido ao longo do receptor de fator de crescimento (#6)– eixo de MAPK pode ser amplificado por, por exemplo, fosforilação de IkB catalisada por Raf, que desencadeia NF-KB a partir dessa proteína inibitória, e pela fosforilação inibitória catalisada por MAPK de Smad, que bloqueia o sinal de suspensão de ciclo celular de receptor TGF-β (#9). A ativação de proteínas quinases (PKC, CaMK e MAPK) pelo Ca^{2+} pode também colocar em funcionamento a sinalização mitogênica. Vários xenobióticos indicados na figura podem desregular a rede de sinalização. Alguns podem induzir a proliferação celular tanto por ativar proteínas quinases mitogênicas (p. ex., PKC) quanto por inibir proteínas inativadoras, como proteínas fosfatases (PTP e PP2A), GAP ou IkB. Outros, como, por exemplo, inibidores de PKC, opõem-se à mitose e facilitam a apoptose. Este esquema é muito simplificado e experimental em vários detalhes. Virtualmente, todos os componentes da rede de sinalização (p. ex., proteína G, PKCs e MAPKs) estão presentes em múltiplas e funcionalmente diferentes formas cuja distribuição pode ser específica da célula. As vias descritas não são igualmente relevantes para todas as células. Além disso, essas vias que regulam a expressão do gene não apenas determinam o destino da célula, mas também controlam certos aspectos das atividades celulares em andamento.

A fosforilação aberrante de proteínas pode resultar da desfosforilação diminuída pelas fosfatases. A inibição das fosfatases parece ser um mecanismo fundamental do efeito mitogênico de vários compostos químicos, estresse oxidativo e irradiação ultravioleta (UV). A proteína solúvel fosfatase 2A (PP2A) presente nas células provavelmente é a responsável pela reversão da indução do fator de crescimento estimulado pela MAPK, controlando, assim, a extensão e a duração da atividade MAPK controlada. A PP2A também remove um fosfato ativante da proteína quinase desencadeadora de mitose. Várias toxinas são inibidoras de PP2A extremamente potentes, incluindo a microcistina-LR liberada pela cianobactéria e o ácido ocadaico produzido por dinoflagelado.

Além das fosfatases, outras proteínas ligantes inibitórias podem manter a sinalização sob controle, como, por exemplo, a IkB, que se liga ao NF-kB, prevenindo sua transferência para dentro do núcleo e sua função como TF. Na fosforilação, a IkB degrada-se, e o NF-kB fica livre. O NF-kB é um colaborador importante para sinalização de proliferação e iniciação, bem como de ação anti-inflamatória e reações de fase aguda. A degradação da IkB e a ativação do NF-kB podem, também, induzir estresse oxidativo.

Transdução de sinal quimicamente alterado com efeito antiproliferativo: a desaceleração da sinalização proliferativa aumentada após lesão celular pode comprometer a substituição das células lesadas (seguir a etapa na Fig. 3.7: inibição de Raf → degradação diminuída de IkB → diminuição da ligação do NF-kB com o DNA → diminuição na expressão do c-Myc mRNA). A subregulação de um sinal mitogênico normal é um passo na direção da morte celular levando à apoptose.

Desregulação da produção do sinal extracelular Hormônios da hipófise anterior exercem efeitos mitogênicos sobre as glândulas endócrinas periféricas, atuando nos receptores da superfície celular. A produção do hormônio da hipófise está sob o controle de *feedback* negativo pelos hormônios das glândulas periféricas. A perturbação desse circuito afeta negativamente a secreção de hormônios da hipófise e, por sua vez, as glândulas periféricas. A diminuição da secreção do hormônio da hipófise produz apoptose, seguida pela involução da glândula-alvo periférica.

Desregulação da atividade celular em progresso Toxicantes podem afetar adversamente a atividade celular em curso das células especializadas por meio da interrupção de qualquer passo no acoplamento de sinal.

Desregulação das células eletricamente excitáveis Muitos xenobióticos influenciam a atividade celular em células excitáveis, tais como as células neuronais, esqueléticas, cardíacas e as do músculo liso. A liberação de neurotransmissores e a contração muscular são controladas pelos transmissores e moduladores sintetizados e liberados pelos neurônios adjacentes. Os compostos químicos que interferem nesses mecanismos estão listados na Tabela 3.1.

A perturbação, por compostos químicos, da atividade celular em andamento ocorre por alteração (1) da concentração de neurotransmissores; (2) da função do receptor; (3) da transdução de sinal intracelular; e (4) dos processos de finalização de sinal.

Alteração nos níveis de neurotransmissores: compostos químicos podem alterar níveis de neurotransmissores sinápticos pela interferência na sua síntese, no armazenamento, na liberação ou na remoção das imediações do receptor.

Interações do receptor de neurotransmissor com o toxicante: alguns compostos químicos interagem diretamente com receptores de neurotransmissores, incluindo (1) agonistas que se associam com o sítio ligante de receptores e imitam ligantes naturais; (2) antagonistas que ocupam o sítio de ligação do ligante, mas não podem ativar o receptor; (3) ativadores; e (4) inibidores que se ligam a um sítio do receptor que não está diretamente envolvido com o ligante. Na ausência de outras ações, agonistas e ativadores imitam, enquanto os antagonistas e os inibidores bloqueiam a resposta fisiológica característica dos ligantes endógenos. Existem muitos tipos de receptores para cada neurotransmissor, e esses receptores podem ser afetados diretamente pelos toxicantes.

Interações do transdutor de sinal com o toxicante: muitos compostos químicos alteram a atividade neuronal e/ou muscular pela ação do processo de transdução de sinal. Canais de Na^+ voltagem-dependente, que transduzem e amplificam sinais excitatórios gerados pelos canais de cátion ligante-dependente, são ativados ou inativados por vários toxicantes (Tab. 3.1).

Interações do finalizador de sinal com o toxicante: o sinal celular gerado pela entrada de cátions é finalizado pela remoção de cátions por meio de canais ou transportadores. A inibição da saída de cátions prolonga a excitação.

Desregulação da atividade de outras células Enquanto muitos mecanismos de sinalização operam em células não excitáveis, como as células exócrinas secretoras, células de Kupffer e células betapancreáticas, o distúrbio nesses processos normalmente apresenta menos consequências.

Comprometimento da manutenção celular interna: mecanismos tóxicos de morte celular

Para sua sobrevivência, todas as células sintetizam moléculas endógenas, constroem complexos macromoleculares, membranas e organelas celulares, mantêm o ambiente intracelular e produzem energia para operação. Agentes que perturbam essas funções colocam em perigo a sobrevivência da célula. Existem três distúrbios bioquímicos críticos que podem se iniciar devido à morte celular induzida por compostos químicos: depleção de ATP, aumento sustentado de Ca^{2+} intracelular e superprodução de ROS e RNS.

Depleção de ATP O ATP desempenha um papel central na manutenção celular como substrato para biossíntese e também como principal fonte de energia. É utilizado em inúmeras reações biossintéticas e é incorporado em cofatores e em ácido nucleico. É, também, requerido para contração muscular e polimerização do citoesqueleto, abastecendo a motilidade celular, a divisão celular, o transporte vesicular e a manutenção da morfologia da célula. O ATP conduz transportadores de íons (p. ex., Na^+, K^+-ATPase) que mantêm a condição essencial para várias funções celulares.

A hidrólise de ATP em ADP ou AMP libera energia química. O ADP é refosforilado na mitocôndria pela síntese de ATP (Fig. 3.8) via um processo que acopla a oxidação de hidrogênio à água, sendo esse processo chamado de *fosforilação oxidativa*.

TABELA 3.1 Agentes que agem sobre os sistemas de sinalização de neurotransmissores causando desregulação da atividade momentânea das células eletricamente excitáveis, como as células neuronais e musculares[1]

Receptor/ Canal/Bomba		Agonista/Ativador		Antagonista/Inibidor	
Nome	**Local**	**Agente**	**Efeito**	**Agente**	**Efeito**
1. Receptor nicotina acetilcolina	Músculo esquelético	Nicotina	Fibrilação muscular, paralisia	Tubocurarina, lofotoxina	Paralisia muscular
		Anatoxina-a Citisina *Ind*: Inibidores de ChE		α-bungarotoxina α-cobrotoxina α-conotoxina Erabutoxina β *Ind*: toxina botulínica	
	Neurônios		Ativação neuronal	Pb^{2+}, anestésicos em geral	Inibição neuronal
2. Receptor glutamato	Neurônios do SNC	Aspartato *N*-Metil-D	Ativação neuronal→ convulsão, dano neuronal ("excitotoxicidade")	Fenciclidina	Inibição neuronal→ anestesia
		Cainato, domoato Quinolinato Quisqualato *Ind*: hipoxia, HCN→liberação de glutamato		Cetamina Anestésicos em geral	Proteção contra "excitotoxicidade"
3. Receptor $GABA_A$	Neurônios do SNC	Muscimol, avermectinas, sedativos (barbitúricos, benzodiazepínicos) Anestésicos em geral (halotano), álcoois (etanol)	Inibição neuronal → sedação, anestésicos em geral, coma, depressão dos centros vitais	Bicuculina Picrotoxina Pentilenotretazol, Ciclodina, inseticidas Lindano, TCAD *Ind*: Isoniazida	Ativação neuronal → tremor, convulsão
4. Receptor glicina	Neurônios do SNC, neurônios motores	Avermectinas (?)	Inibição dos neurônios motores → paralisia	Estricnina	Desinibição dos neurônios motores → convulsão tetânica
		Anestésicos em geral		*Ind*: toxina tetânica	
5. Receptor muscarínico M_2 acetilcolina	Músculo cardíaco	*Ind*: inibidores ChE	Diminuição da frequência e contratibilidade cardíaca	Alcaloides da beladona (p. ex., atropina) Substâncias semelhantes à atropina (p. ex., TCAD)	Aumento da frequência cardíaca
6. Receptor opioide	Neurônios do SNC e viscerais	Morfina e congêneres (p. ex., heroína, meperidina)	Inibição neuronal → analgesia, depressão respiratória central, constipação, retenção urinária	Naloxona	Antídoto na intoxicação por opiáceos
		Ind: clonidina			
7. Canal de Na^+ voltagem--dependente	Células musculares, neuronais, etc.	Aconitina, veratridina	Ativação neuronal → convulsão	Tetradotoxina, saxitoxina	Inibição neuronal → paralisia, anestesia, ação anticonvulsivante
		Graianotoxina Batracotoxina Toxinas de escorpião Ciguatoxina DDT, piretroides		μ-conotoxina Anestésicos locais Fenitoína Quinidina	

(*continua*)

TABELA 3.1 Agentes que agem sobre os sistemas de sinalização de neurotransmissores causando desregulação da atividade momentânea das células eletricamente excitáveis, como as células neuronais e musculares (*Continuação*)

Receptor/ Canal/Bomba		Agonista/Ativador		Antagonista/Inibidor	
Nome	**Local**	**Agente**	**Efeito**	**Agente**	**Efeito**
8. Canal de Ca^{2+} voltagem-dependente	Células musculares e neuronais, etc.	Maitotoxina (?) Atrotoxina (?) Latrotoxina (?)	Ativação neuronal/ muscular, dano celular	ω-conotoxina Pb^{2+}	Inibição neuronal → paralisia
9. Canal ativado K^+ voltagem/ Ca^{2+}	Neurônios, músculo liso e esquelético, músculo cardíaco	Pb^{2+}	Inibição neuronal/ muscular	Ba^{2+}; apamina (veneno de abelha), dendrotoxina, 20-HETE; inibidores de hERG (p. ex., cisaprida, terfenadina)	Ativação neuronal/ muscular → convulsão, espasmo, vasoconstrição Taquicardia PMV (*torsades de pointes*)
10. Na^+, K^+ – ATPase	Universal			Glicosídeos digitálicos Oleandrina Clordecona	Aumento da contratilidade cardíaca, excitabilidade Aumento da excitabilidade neuronal → tremores
11. Receptor muscarínico M_3	Músculo liso, glândulas	*Ind*: inibidores ChE	Espasmo do músculo liso	Alcaloides da beladona (p. ex., atropina)	Relaxamento do músculo liso → paralisia intestinal, diminuição da salivação, diminuição da transpiração
Acetilcolina Receptor muscarínico M_1 acetilcolina	Neurônios do SNC	Oxotremorina	Salivação, lacrimejamento Ativação neuronal → convulsão	Substâncias semelhantes à atropina como droga (p. ex., TCAD) Ver acima	
12. Receptor alfa$_1$ adrenérgico	Músculo liso vascular	(Nor)adrenalina *Ind*: cocaína, tiramina, anfetamina, TCAD	Vasoconstrição → isquemia, hipertensão	Prazosina	Antídoto para intoxicação com agonistas de receptores alfa$_1$
13. Receptor 5-HT2	Músculo liso	Alcaloides do Ergot (ergotamina, ergonovina)	Vasoconstrição → isquemia, hipertensão	Quetanserina	Antídoto na intoxicação por alcaloides do Ergot
14. Receptor beta$_1$ adrenérgico	Músculo cardíaco	(Nor)adrenalina *Ind*: cocaína, tiramina, anfetamina, TCAD	Aumento da contratilidade cardíaca e excitabilidade	Atenolol, metoprolol	Antídoto para a intoxicação por agonistas de receptores beta$_1$

[1] Numerando os elementos de sinalização nesta tabela que correspondem aos seus símbolos na Figura 3.12. Esta tabulação está simplificada e incompleta. Virtualmente, os receptores e canais listados ocorrem em múltiplas formas com diferentes sensibilidades com os agentes. Recomenda-se a consulta de uma literatura pertinente para informações mais detalhadas. SNC = sistema nervoso central; ChE = colinesterase; *Ind* = ação indireta (i.e., pela alteração nos níveis de neurotransmissores); 20-HETE = ácido 20-hidroxi-5,8,11,14-eicosatetranoico; PMV = polimórfica ventricular; TCAD = antidepressivo tricíclico. O ? indica que existe alguma incerteza sobre a ação.

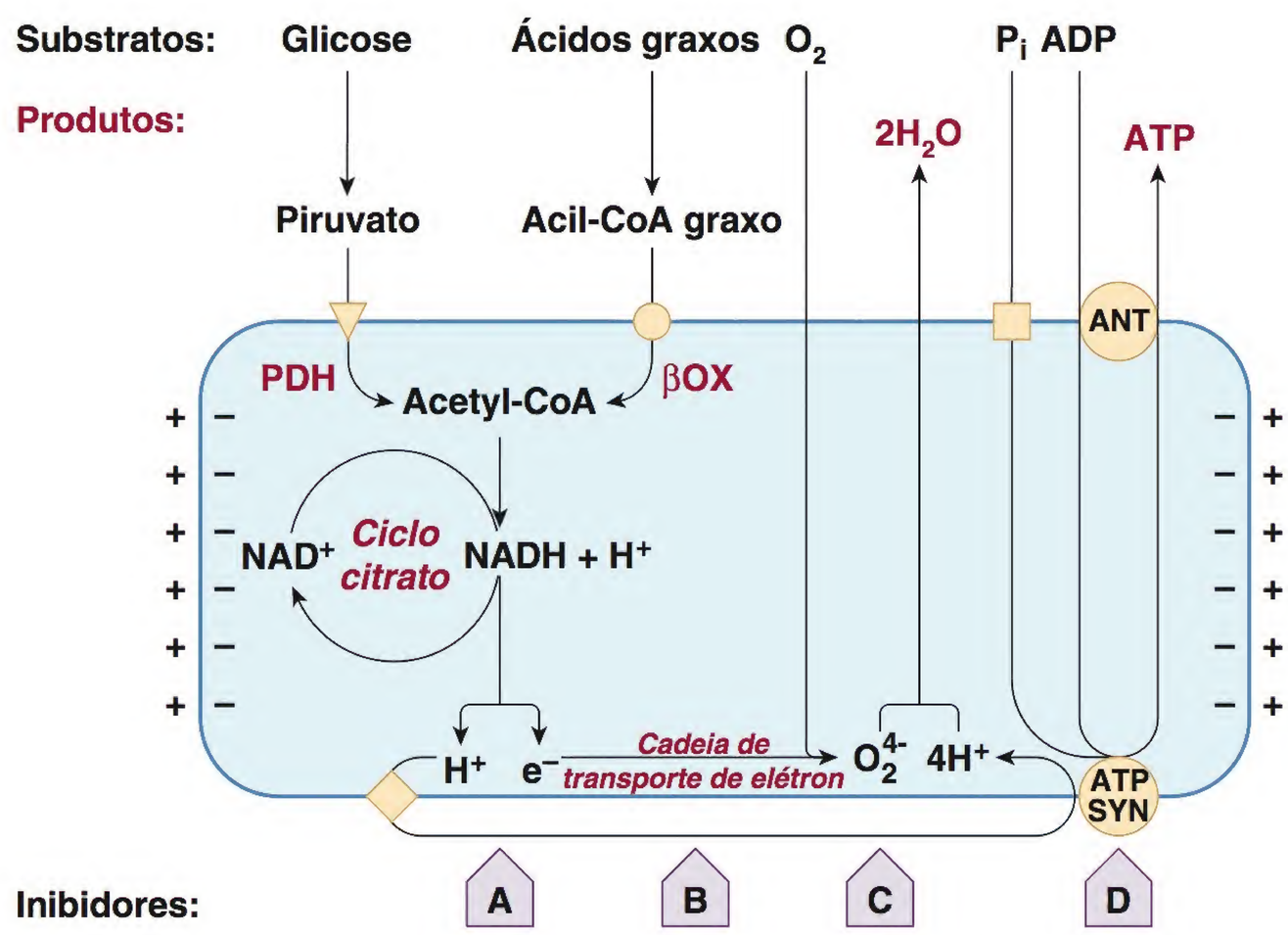


FIGURA 3.8 Síntese de ATP (fosforilação oxidativa) na mitocôndria. Setas com letras A-D apontam para os sítios finais de ação de quatro categorias de agentes que interferem na fosforilação oxidativa (Tab. 3.2). Para simplificar, este esquema não indica a membrana externa mitocondrial e os prótons que são expulsos do espaço da matriz ao longo da cadeia transportadora de elétrons de três locais. βOX = beta-oxidação de ácidos graxos; e^- = elétron; P_i = fosfato inorgânico; ANT = translocador adenina nucleotídeo; ATP SYN = ATP sintase (F_oF_1ATPase).

A fosforilação oxidativa também requer várias fases, e cada uma delas pode interferir com toxicantes, como descrito na Tabela 3.2. O comprometimento da fosforilação oxidativa causa detrimento nas células devido à falha na refosforilação de ADP, que resulta na acumulação de ADP e de seus produtos de degradação e na depleção de ATP.

Substâncias da classe A (inibidores da liberação de hidrogênio para ação na cadeia transportadora de elétrons por agirem na cadeia ou mimetizando o hidrogênio) inteferem na liberação de hidrogênio na cadeia de transporte de elétrons. Substâncias da classe B (inibidores do transporte de elétrons) inibem a transferência de elétrons ao longo da cadeia transportadora de elétrons para oxigênio. Agentes da classe C (inibidores da liberação de oxigênio para a cadeia de transporte de elétrons) interferem na liberação de oxigênio para o transportador de elétrons terminal, citocromo oxidase. Compostos químicos da classe D (inibidores da ação da fosforilação de ADP) inibem a fosforilação oxidativa por: (1) inibição direta na síntese de ATP; (2) interferência na liberação de ADP; (3) interferência na liberação de fosfato inorgânico; e (4) privação da síntese de ATP de sua força motriz, a entrada controlada de prótons dentro do espaço da matriz. Por fim, compostos químicos que causam lesão ao DNA e, assim, dano na síntese de proteínas específicas codificadas pelo genoma mitocondrial, são listados no grupo E.

Aumento prolongado de Ca^{2+} intracelular Os níveis de Ca^{2+} intracelular são altamente regulados e mantidos pela impermeabilidade da membrana plasmática ao Ca^{2+} e pelos mecanismos de transporte que removem o Ca^{2+} do citoplasma. O Ca^{2+} é ativamente bombeado do citosol através da membrana plasmática e sequestrado no retículo endoplasmático e na mitocôndria (Fig. 3.8).

Os agentes tóxicos induzem a elevação dos níveis citoplasmáticos de Ca^{2+} pela promoção da entrada de Ca^{2+} ou inibição de sua saída do citoplasma (Tab. 3.3). A abertura dos canais de Ca^{2+} voltagem ou ligante-dependentes ou os danos à membrana plasmática fazem o Ca^{2+} diminuir seu gradiente de concentração do fluido extracelular para o citoplasma. Substâncias tóxicas também podem aumentar os níveis de Ca^{2+} citosólico induzindo seu vazamento da mitocôndria ou do retículo endoplasmático. Elas também podem diminuir a saída de Ca^{2+} por meio da inibição dos transportadores de Ca^{2+} ou depleção de suas forças motrizes. A elevação prolongada de Ca^{2+} intracelular é prejudicial porque pode resultar em (1) depleção da reserva de energia pela inibição da ATPase usada na fosforilação oxidativa; (2) disfunção de microfilamentos; (3) ativação de enzimas hidrolíticas; e (4) geração de ROS e RNS.

Existem, pelo menos, três mecanismos pelos quais o aumento dos níveis intracelulares de Ca^{2+} influencia o balanço de energia celular. Primeiro, altos níveis de Ca^{2+} citoplasmático causam aumento da captação de Ca^{2+} mitocondrial pelo carreador de Ca^{2+}, o qual, como a ATP sintase, utiliza o potencial negativo da membrana mitocondrial interna como força motriz. Consequentemente, a captação de Ca^{2+} mitocondrial dissipa o potencial de membrana e inibe a síntese de ATP. Além disso, os agentes que oxidam NADH mitocondrial ativam um transportador que expulsa o Ca^{2+} do espaço da matriz. A contínua captação e exportação de Ca^{2+} ("ciclo do Ca^{2+}") pela mitocôndria compromete ainda mais a fosforilação oxidativa.

Segundo, um aumento incontrolado de Ca^{2+} no citoplasma causa lesão celular pela dissociação microfilamental. Um aumento de Ca^{2+} citoplasmático causa dissociação dos filamentos de actina das proteínas que promovem a ancoragem do filamento à membrana plasmática, predispondo a ruptura da membrana.

TABELA 3.2 Agentes comprometendo a síntese de ATP mitocondrial[1]

A. Inibidores da liberação de hidrogênio para ação na cadeia transportadora de elétrons

1. Glicólise (fundamental em neurônios): hipoglicemia, iodoacetato e NO^+ do GAPDH
2. Gluconeogênese (fundamental nas células tubulares renais): depletores da coenzima A (ver abaixo)
3. Oxidação de ácidos graxos (fundamental no músculo cardíaco): hipoglicina, ácido 4-pentenoico
4. Piruvato desidrogenase: arsenito, DCVC, *p*-benzoquinona
5. Ciclo citrato
   (a) Aconitase: fluoroacetato, $ONOO^-$
   (b) Isocitrato desidrogenase: DCVC
   (c) Succinato desidrogenase: malonato, DCVC, PCBD-cys, fungicidas 2-bromohidroquinona, *cis*-crotonaldeído
6. Depletores de TPP (inibe PDH dependente-TPP e α-KGDH): etanol
7. Depletores da coezima A: 4-(dimetilamino)fenol, *p*-benzoquinona
8. Depletores de NADH
   (a) Ver grupo A.V.i na Tabela 3.3
   (b) Ativadores de poli (ADP-ribose) polimerase, MNNG, peróxido de hidrogênio, $ONOO^-$

B. Inibidores do transporte de elétrons

1. Inibidores de complexos de transporte de elétrons
   (a) Coenzima Q redutase-NADH (complexo I): rotenona, amital, MPP^+, paraquat
   (b) Citocromo Q-citocromo *c* redutase (complexo III): antimicina-A, mixotiazol
   (c) Citocromo oxidase (complexo IV): cianeto, sulfeto de hidrogênio, azida, metanoato, •NO, fosfina (PH3)
   (d) Inibidores multissítios: dinitroanilina e herbicidas difenileterés, ONOO-
2. Aceptores de elétrons: CCl_4, doxorubicina, menadiona, MPP^+

C. Inibidores da liberação de oxigênio para a cadeia de transporte de elétrons

1. Compostos químicos causando paralisia respiratória: depressores do SNC (p. ex., opioides), convulsivantes
2. Compostos químicos comprometendo a troca de gases pulmonares: CO_2, NO_2, fosgênio, perfluoroisobutano
3. Compostos químicos inibindo a oxigenação de Hb: monóxido de carbono, químicos formadores de metemoglobina
4. Compostos químicos causando isquemia: alcaloides do Ergot, cocaína

D. Inibidores da ação da fosforilação de ADP

1. ATP sintase: oligomicina, cihexatina, DDT, clordecona
2. Translocador de adenina nucleotídeo: atractilosídeo, DDT, ácidos graxos livres, lisofosfolipídeos
3. Transportador de fosfato: *N*-etilmaleimida, mersalila, *p*-benzoquinona
4. Compostos químicos dissipando o potencial de membrana mitocondrial (desacopladores)
   (a) Cationóforos: pentaclorofenol, dinitrofenol-, benzonitrila-, herbicidas tiadiazóis, salicilato, amiodarona, perhexilina, valinomicina, gramidicina, calcimicina (A23187)
   (b) Compostos químicos permeabilizando a membrana interna mitocondrial: PCBD-cys, clordecona

E. Compostos químicos causando lesão do DNA mitocondrial e/ou comprometendo a transcrição de proteínas-chave mitocondriais

1. Fármacos antivirais: zidovudina, zalcitabina, didanosina, fialuridina
2. Cloranfenicol (quando em superdosagem)
3. Etanol (quando consumido cronicamente)

[1] Os sítios finais de ação desses agentes são indicados na Figura 3.8. DCVC = diclorovinil-cisteína; GAPDH = gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase; α-KGDH = α-ketoglutarato desidrogenase; MNNG = *N*-metil-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidina; MPP^+ = 1-metil-4-fenilpiridio; PCBD-cys = pentaclorobutadienilcisteína; PDH = piruvato desidrogenase; TPP = tiamina pirofosfato.

Terceiro, altos níveis de Ca^{2+} podem provocar a ativação de enzimas hidrolíticas que degradam proteínas, fosfolipídeos e ácidos nucleicos. Muitas proteínas íntegras da membrana são alvo de proteases neutras ativadas-Ca^{2+}, ou calpaínas. A ativação indiscriminada de fosfolipases por Ca^{2+} causa quebra da membrana diretamente e pela geração de detergentes. A ativação de endonucleases dependente Ca^{2+}-Mg^{2+} causa fragmentação da cromatina.

Superprodução de ROS e RNS Vários xenobióticos podem gerar diretamente ROS e RNS, tais como os ciclizadores redox e metais de transição (Fig. 3.3). A superprodução de ROS e RNS pode ser secundária à hipercalcemia intracelular, uma vez que o Ca^{2+} ajuda a gerar ROS e/ou RNS por ativar desidrogenases no ciclo do ácido cítrico, levando a aumento da atividade da cadeia de transporte de elétrons e ao aumento da formação de $O_2^{\bullet -}$ e HOOH, e por ativar a óxido nítrico sintase, que provoca a formação de $ONOO^-$.

Interação entre alterações metabólicas primárias significa desastre celular O primeiro desajuste na bioquímica celular discutido anteriormente pode interagir e amplificar outros em uma série de maneiras:

1. A depleção da reserva de ATP celular priva as bombas de Ca^{2+} da membrana plasmática e endoplasmática do seu combustível, causando elevação de Ca^{2+} no citoplasma. Com a entrada de Ca^{2+} na mitocôndria, seu potencial de membrana diminui, dificultando a síntese de ATP.

TABELA 3.3 Agentes acarretando elevação sustentada de Ca^{2+} citosólico

A. Compostos químicos que induzem influxo de Ca^{2+} para o citoplasma
I. Via canais controlados por ligantes em neurônios
1. Agonistas de receptores de glutamato ("excitotoxinas"): glutamato, cainato,
2. Agonistas de receptor TRPV1 (receptor capsaicina): capsaicina, resiniferatoxina
II. Via canais de voltagem-: maitotoxina (?), HO•
III. Via poros recém-formados: maitotoxina, anfotericina B, clordecona, metilmercúrio, alquiltinas
IV. Através da membrana celular danificada
1. Detergentes: detergentes exógenos, lisofosfolipídeos, ácidos graxos livres
2. Enzimas hidrolíticas: fosfolipases de venenos de cobra, fosfolipase endógena A_2
3. Peroxidantes lipídicos: tetracarcloreto de carbono
4. Toxinas do citoesqueleto (pela indução de bolhas nas membranas): citocalasinas, faloidina
V. Da mitocôndria
1. Oxidantes do NADH intramitocondrial: aloxano, t-BHP, NAPBQI, divicina, hidroperóxidos de ácidos graxos, menadiona, MPP^+
2. Outros: óxido fenilarsina, gliotoxina, •NO, ONOO-
VI. Do retículo endoplasmático
1. Ativadores de receptores IP_3: γ-HCH (lindano), IP_3 formado durante a "excitotoxicidade".
2. Ativadores de receptores rianodina: δ-HCH
B. Compostos químicos que inibem a saída de Ca^{2+} do citoplasma (inibidores de ATPase-Ca^{2+} na membrana celular e/ou retículo endoplasmático)
I. Ligantes covalentes: paracetamol, bromobenzeno, CCl_4, clorofórmio, DCE
II. Oxidantes tiol: cistamina (formação de dissulfeto misturado), diamida, *t*-BHP, $O_2^{\bullet -}$ e geradores HOOH (p. ex., menadiona, diquat)
III. Outros: vanadato, Cd^{2+}
IV. Compostos químicos que comprometem a síntese de ATP mitocondrial (ver Tab. 3.3)

DCE = 1,1-dicloroetileno; *t*-BHP = t-butilhidroperóxido; HCH = hexaclorociclohexano; MPP^+ = 1-metil-4-fenilpiridinium; NAPBQI = *N*-acetil-*p*-benzoquinoneimina.
O ? indica que existe alguma incerteza sobre a ação.

2. A hipercalcemia intracelular facilita a formação de ROS e RNS, que inativa oxidativamente a bomba de Ca^{2+}, agravando a hipercalcemia.
3. ROS e RNS podem, também, drenar as reservas de ATP. O •NO é um inibidor reversível de citocromo oxidase, o NO^+ (cátion nitrosônio, um produto do •NO) inativa gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase e compromete a glicólise, enquanto o $ONOO^-$ inativa irreversivelmente diversos componentes da cadeia de transporte de elétrons, inibindo a síntese de ATP celular.
4. Além disso, o $ONOO^-$ pode induzir quebra de simples fita do DNA, que ativa poli (ADP-ribose) polimerase (PARP). Como parte da estratégia de reparo, o PARP ativado transfere múltiplas unidades ADP-ribose do NAD^+ para proteínas nucleares e para si mesmo. Como o consumo de NAD^+ compromete a síntese de ATP (ver Fig. 3.8) e a ressíntese de NAD^+ consome ATP, ocorre um déficit de energia celular como principal consequência do dano ao DNA pelo $ONOO^-$

Transição de permeabilidade mitocondrial (MPT) e o pior resultado: necrose A captação de Ca^{2+} mitocondrial, o potencial de membrana mitocondrial diminuído, a geração de ROS e RNS, a depleção de ATP e as consequências de distúrbios metabólicos primários (p. ex., acúmulo de fosfato inorgânico, ácidos graxos livres e lisofosfatídeos) são considerados fatores causais de um aumento abrupto na permeabilidade da membrana interna da mitocôndria, nomeado MPT. Acredita-se ser causado pela abertura de um poro proteonáceo que atinge ambas as membranas mitocondriais e é permeável a solutos de 1.500 Da. Essa abertura permite a entrada livre dos prótons ao espaço da matriz, causando dissipação rápida e completa do potencial de membrana, parada da síntese da ATP e a entrada osmótica de água, causando turgimento mitocondrial. O Ca^{2+} acumulado no espaço da matriz sai pelo poro, inundando o citoplasma. Tal mitocôndria não é só incapaz de sintetizar ATP, mas também desperdiça os recursos restantes porque a despolarização da membrana interna força a ATP sintase a operar em modo reverso, como ATPase, hidrolisando ATP. Então, a glicólise pode ficar comprometida pelo suprimento insuficiente de ATP para as enzimas glicolíticas (hexoquinase e fosfofrutoquinase). Uma completa catástrofe bioenergética acontece na célula se o distúrbio metabólico causado pelo toxicante (como aqueles listados nas Tabs. 3.2 e 3.3) fizer boa parte ou toda a mitocôndria submeter-se ao MTP, causando depleção celular de ATP e culminando na lise da célula ou necrose (ver Fig. 3.9).

Efeito alternativo da MPT: apoptose Compostos químicos que adversamente afetam o metabolismo de energia celular, a homeostase de Ca^{2+}, o estado redox e, em última análise, causam necrose, podem, também, induzir apoptose. Enquanto as células necróticas são caracterizadas por edema e lise, as células apoptóticas são caracterizadas por encolhimento, condensação do material nuclear e do citoplasma e subsequente quebra dos fragmentos da membrana (corpos apoptóticos) que são fagocitados.

Em contraste com a sequência aleatória de múltiplos defeitos metabólicos que a célula sofre quando desencadeia a necrose, para a apoptose, as rotas são ordenadas, envolvendo a ativação da cascata do processo catabólico que finalmente desmonta a célula. Detalhes das vias apoptóticas são mostrados na Figura 3.10. Parece que a maioria, mas não todos, dos compostos químicos induz morte celular envolvendo a mitocôndria, e que o MPT é

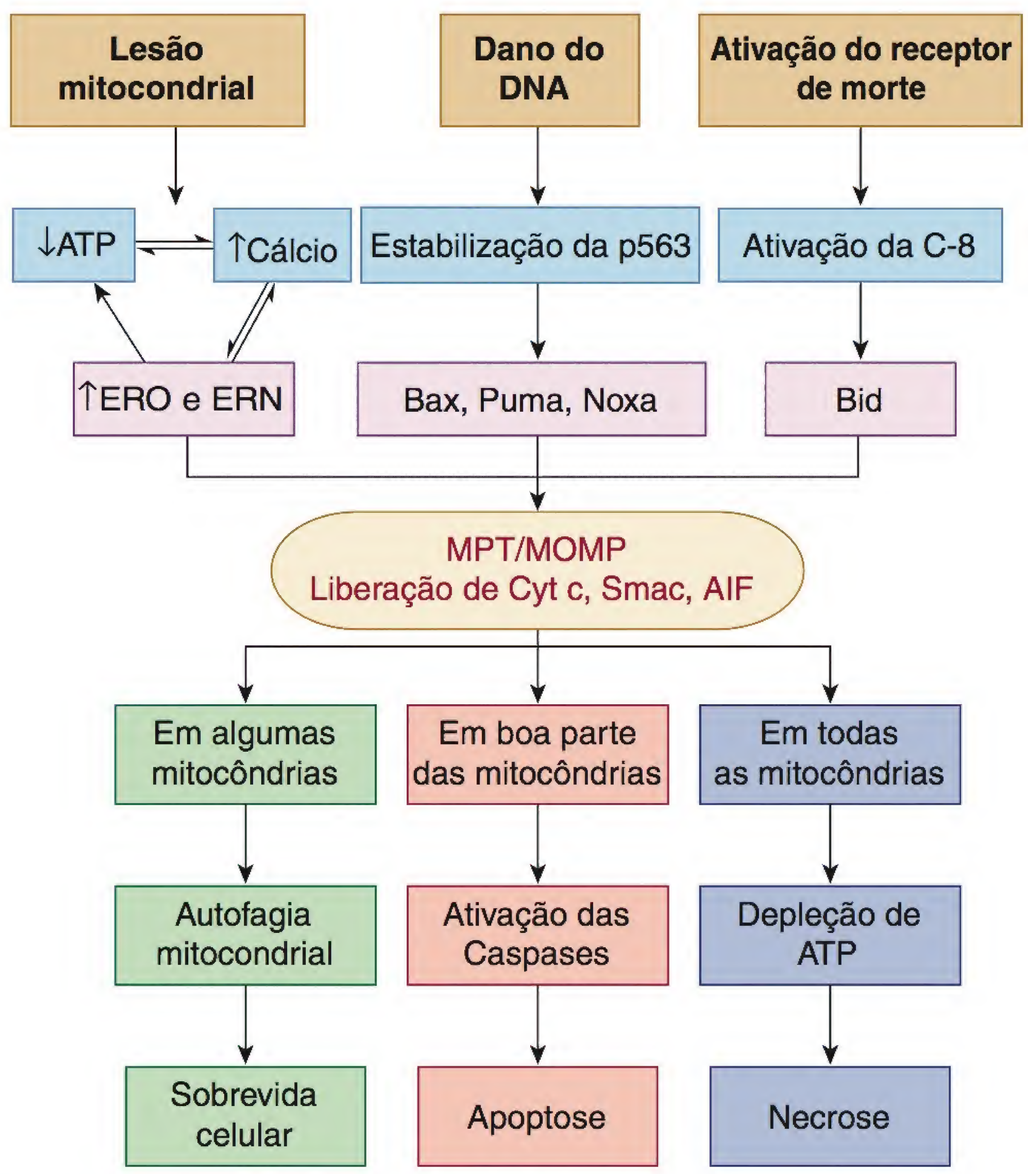


FIGURA 3.9 "Plano de decisão" sobre o destino da célula lesada. Veja o texto para mais detalhes. MOMP = permeabilização da membrana externa mitocondrial; MPT = transição de permeabilidade mitocondrial; Puma = modulador de ativação de apoptose via p53; ERO/ERN. Espécies reativas do oxigênio/Espécies reativas de nitrogênio.

um evento crucial. Outro evento relatado é a liberação dentro do citoplasma do citocromo *c* (cyt *c*), uma pequena hemeproteína que normalmente habita o espaço intermembrana da mitocôndria acoplada à superfície da membrana interna.

Como o cyt *c* é a penúltima ligação no transporte da cadeia de elétron mitocondrial, sua perda bloqueia a síntese de ATP, o aumento na formação de $O_2^{\bullet -}$ e, potencialmente, o impulso em direção à necrose da célula. Ao mesmo tempo, o cyt *c* desencadeado representa um sinal ou elo inicial da cadeia de eventos direcionando a célula para a veia apoptótica (Fig. 3.10). Na ligação, junto com o ATP, uma proteína adaptadora, o cyt *c*, pode induzir clivagem proteolítica de proteínas chamadas caspases ou cisteínas proteases, que clivam proteínas citoplasmáticas em fragmentos, iniciando apoptose. Algumas caspases (p. ex., 2, 8 e 9) ativam pró-caspases. Essas caspases de sinalização transportam a onda de ativação para os chamados caspases efetores (p. ex., 3, 6 e 7), que ativam ou inativam proteínas específicas celulares.

Os eventos mitocondriais de morte celular são controlados pela família de proteínas Bcl-2, que inclui membros que facilitam (p. ex., Bax, Bad e Bid) e aqueles que inibem (p. ex., Bcl-2 e Bcl-XL) esses processos. Os promotores de morte podem oligomerizar e formar poros na membrana externa da mitocôndria, facilitando, assim, a liberação de cyt *c* e outras proteínas pró-apoptóticas intermembrana pela via MPT induzida por tóxicos da mitocôndria; no entanto, a permeabilização da membrana externa mitocondrial (MOMP) sozinha por Bax e seus congêneres é suficiente para provocar a saída do cyt c da mitocôndria. A quantidade relativa dessas funções proteicas antagônicas reguladoras é como uma chave entre a sobrevivência e a morte celular.

As proteínas pró-apoptóticas Bax e Bid também representam ligações pelas quais o programa de morte celular, iniciado pela lesão ao DNA no núcleo ou pela estimulação de certos receptores, chamados Fas, na superfície celular, pode desencadear o processo apoptótico dentro da mitocôndria (Fig. 3.10). A lesão ao DNA induz estabilização e ativação da proteína p53, que aumenta a expressão da proteína Bax, um membro da família Bcl-2. A lesão de DNA é potencialmente mutagênica e carcinogênica, e, apoptose de células com lesão de DNA é uma importante autodefesa contra a oncogênese. A estimulação dos receptores pode diretamente ativar caspases e engajar a mitocôndria em programas de morte via ativação da Bid mediada por caspase, outro membro da família Bcl-2 (Fig. 3.10). Assim, a apoptose pode ser executada por múltiplas vias, sendo que a rota de preferência depende das agressões iniciais, bem como do tipo e do estado da célula.

A morte celular é determinada pela disponibilidade de ATP Muitos xenobióticos podem causar necrose e apoptose. Toxicantes tendem a induzir apoptose em baixos níveis de exposição ou precocemente após exposição a altos níveis, causando necrose, mais tarde, em níveis de exposição elevados. Achados recentes sugerem que a disponibilidade de ATP é fundamental na determinação da forma de morte celular. Quando apenas poucas mitocôndrias desenvolvem MPT, e com eles os sinais pró-apoptóticos (p. ex., cyt *c* externalizado), são removidas pela autofagia lisossomal. Quando o MPT envolve mais mitocôndrias, o mecanismo de autofagia torna-se oprimido, e o cyt *c* liberado inicia ativação da caspase e apoptose (Fig. 3.10). Quando o MPT envolve virtualmente toda a mitocôndria, o ATP torna-se severamente depletado, prevenindo a execução do programa apoptótico requerente de ATP, e, então, ocorre a citólise.

ETAPA 4 – REPARO OU FALHA NO REPARO

A quarta etapa no desenvolvimento da toxicidade é o reparo inadequado (Fig. 3.1). Muitos agentes tóxicos causam alterações em macromoléculas, que, se não reparadas, causam danos em níveis superiores da hierarquia biológica do organismo e influenciam na progressão da toxicidade.

Reparo molecular

Moléculas danificadas podem ser reparadas de diferentes formas. Algumas alterações químicas, tais como a oxidação de grupos tióis de proteínas e a metilação do DNA, são simplesmente revertidas. A remoção hidrolítica de unidades danificadas da molécula e inserção de uma unidade novamente sintetizada ocorre com frequência com DNA quimicamente alterado e lipídeos peroxidados. Em alguns casos, a molécula danificada é totalmente degradada e ressintetizada.

Reparo de proteínas Grupos tióis são essenciais para a função de várias proteínas. A oxidação desses grupos pode ser revertida por uma redução enzimática que é catalisada por tioredoxinas e glutaredoxinas. Uma vez oxidados, os grupos tióis catalíticos dessas proteínas são reciclados por redução com NADPH.

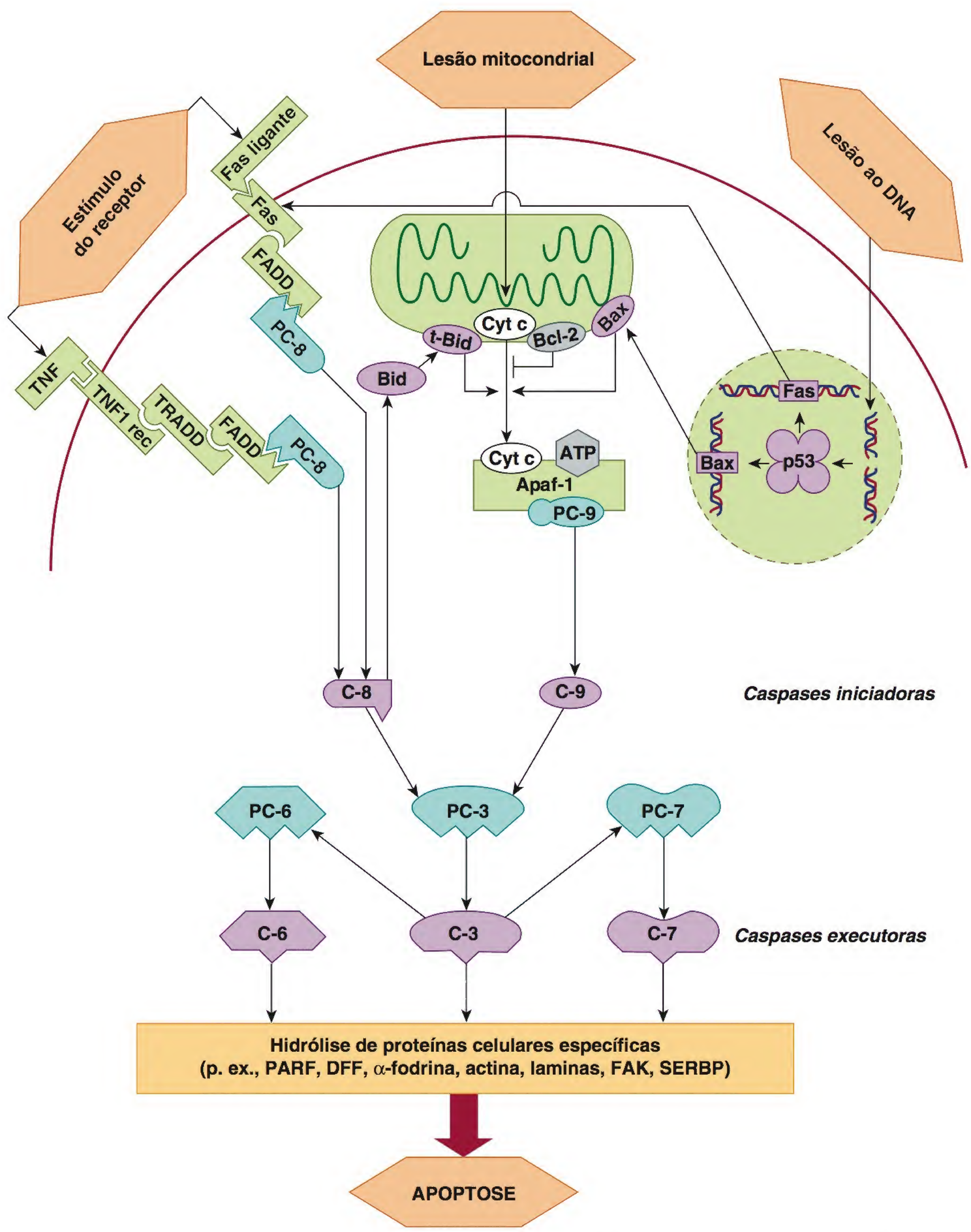


FIGURA 3.10 Etapas apoptóticas iniciadas por lesão mitocondrial, lesão ao DNA nuclear e estímulo do Fas ou receptor TNF-1. A figura é um esquema simplificado das três etapas da apoptose. (1) A lesão mitocondrial (ver texto), em última análise, abre o poro de transição de permeabilidade abrangendo ambas as membranas mitocondriais e/ou causando a liberação do citocromo *c* (cyt *c*) da mitocôndria. Essa liberação é facilitada pelas proteínas Bax ou Bid e dificultada pela proteína Bcl-2. (2) A lesão ao DNA, especialmente a quebra de dupla fita, ativa a proteína p53, que aumenta a expressão de Bax (que medeia a liberação de cyt *c*) e a proteína receptora de membrana Fas. (3) A Fas ligante ou o fator de necrose tumoral liga-se e ativa seus respectivos receptores (Fas e TNF-1). Esses receptores ligados e o cyt *c* liberado interagem com proteínas adaptadoras específicas (i.e., FADD, RAIDD e Apaf-1), por meio das quais proteoliticamente ativam procaspases (PC) para caspases ativas (C). Esta última, por sua vez, cliva e ativa outras proteínas (p. ex., o precursor de Bid, P-Bid) e PC-3, a principal pró-caspase efetora. O efetor ativo pró-caspase-3 ativa outras pró-caspases efetoras (PC-6 e PC-7). Por fim, C-3, C-6 e C-7 prendem proteínas celulares específicas, por meio das quais ocorre a apoptose. Essas etapas não são igualmente relevantes em todos os tipos de células, e outras etapas, tais como aquelas que empregam TGF-β como uma molécula sinalizadora extracelular e ceramida como uma molécula sinalizadora intracelular, também existem. DFF = fator de fragmentação do DNA; FAK = quinase de adesão focal; PARP = poli (ADP-ribose) polimerase; SREBP = proteína de ligação ao elemento de resposta a esterol.

O reparo de hemoglobina oxidada (metemoglobina) ocorre por transferência de elétrons do citocromo b_5, que é, então, regenerado por um citocromo b_5 redutase dependente de NADH. Chaperonas moleculares, tais como proteínas de choque térmico, são sintetizadas em grande quantidade em resposta à desnaturação proteica. As proteínas danificadas podem, também, ser refeitas com o auxílio de chaperonas ou degradadas, após a ubiquitinação no proteassoma. O sistema proteolítico ATP/ubiquiti-

na-dependente é, também, especializado em controlar o nível de proteínas regulatórias (p. ex., p53, IkB e ciclinas) que eliminam proteínas intracelulares mutadas ou danificadas. Além disso, as proteínas podem ser eliminadas por proteólise nos lisossomos.

Reparo de lipídeos Lipídeos peroxidados são reparados por um processo complexo que envolve uma série de redutores, glutationa peroxidase e glutationa redutase. O NADPH é necessário para reciclar os redutores que são oxidados no processo.

Reparo do DNA Apesar de sua alta reatividade com eletrófilos e radicais livres, o DNA nuclear é incrivelmente estável, em parte porque está envolvido em cromatina e porque diversos mecanismos de reparo estão disponíveis para corrigir alterações. O DNA mitocondrial, entretanto, não possui histonas e mecanismos de reparo eficientes, sendo mais propício a danos.

Reparo direto Certas ligações covalentes ao DNA são diretamente revertidas por enzimas como a DNA fotoliase, que cliva pirimidinas adjacentes dimerizadas pela luz UV. Essa enzima cromóforo-equipada está ativa somente em células expostas à luz. Adutos menores, tais como grupos metila ligados à posição O^6 da guanina, são removidos pela O^6-alquilguanina-DNA-alquiltransferase.

Reparo por excisão Excisão de base e excisão de nucleotídeo são dois mecanismos para remover bases danificadas do DNA (Caps. 8 e 9). Lesões que não causam maiores distorções da hélice costumam ser removidas por excisão de base, em que a base alterada é reconhecida por uma DNA glicosilase relativamente substrato-específica que hidrolisa a ligação *N*-glicosídica, liberando a base modificada e criando um sítio apurínico ou apirimidínico (AP) no DNA. O sítio AP é reconhecido pela endonuclease AP, que hidrolisa a ligação fosfodiéster adjacente ao sítio abásico. Depois de sua remoção, o açúcar abásico é substituído com o nucleotídeo correto por uma DNA polimerase e é colocado no lugar pela DNA ligase.

Adutos volumosos são removidos por reparo de excisão de nucleotídeo. Uma nuclease ATP-dependente reconhece a dupla hélice distorcida e excisa um número de nucleotídeos intactos em ambos os lados da lesão junto com aqueles contendo o aduto. A seção excisada da fita é restaurada pela inserção de nucleotídeos na lacuna pela DNA polimerase e ligase, usando a fita complementar como molde.

O PARP parece ser um contribuinte importante no reparo por excisão. Na base danificada ou na quebra de simples fita, o PARP liga-se ao DNA lesado e torna-se ativo. O PARP ativo cliva NAD^+, usando a unidade ADP ribose desse cofator para ligar cadeias longas de ADP ribose polimérica às proteínas nucleares. Isso faz o DNA se desenrolar, dando acesso às enzimas de reparo e permitindo que o DNA danificado seja reparado.

Reparo recombinacional (ou pós-replicação) O reparo recombinacional ocorre quando a excisão de um aduto volumoso ou de um dímero de pirimidina intrafita não ocorre antes do início da replicação do DNA. Na replicação, tal lesão impede a DNA polimerase de polimerizar uma fita filha ao longo de um trecho considerável da fita parental danificada. A replicação resulta em duas duplas de DNA homólogas ("irmãs"), ainda que diferentes: uma com uma grande lacuna pós-replicação na sua fita filha e uma dupla intacta sintetizada na perna oposta da forquilha da replicação. Essa dupla irmã intacta completa a lacuna pós-replicação na dupla irmã danificada por replicação ("cruzamento") da fita apropriada de duas duplas homólogas. Depois da separação, a dupla irmã que originalmente continha a lacuna carrega na sua fita filha uma seção originada da sua fita parental da irmã intacta, que, por sua vez, carrega na sua fita parental uma seção originada da fita filha da irmã danificada – um processo de troca de cromátide irmã. Uma combinação de reparo por excisão e recombinacional ocorre na restauração do DNA com cruzamentos interfita.

Reparo celular: uma estratégia dos neurônios periféricos

O reparo de neurônios danificados é minimamente aplicado na superação a danos celulares porque neurônios maduros perdem sua capacidade de se multiplicar. Nos neurônios periféricos com dano axonal, o reparo ocorre e necessita de macrófagos e células de Schwann. Os macrófagos removem os detritos por fagocitose e produzem citocinas e fatores de crescimento que ativam células de Schwann para se proliferarem e se transdiferenciarem em um modo de suporte ao crescimento. Enquanto migram com o axônio crescente, as células de Schwann guiam fisicamente, assim como atraem quimicamente o axônio para reinervar a célula-alvo.

No sistema nervoso de mamíferos, a recuperação axonal é impedida por glicoproteínas inibitórias de crescimento e proteoglicanas sulfato condroitinas produzidas pelos oligodendrócitos e pela cicatriz produzida por astrócitos. Embora o dano ao sistema nervoso seja irreversível, o grande número reserva de células nervosas pode compensá-lo parcialmente, assumindo as funções dos neurônios perdidos.

Reparo tecidual

Em tecidos com células capazes de se multiplicar, o dano é revertido por apoptose ou necrose das células lesadas e regeneração do tecido por proliferação.

Apoptose: supressão ativa de células danificadas A apoptose iniciada pelas células lesadas pode ser considerada reparo tecidual. Uma célula em apoptose encolhe conforme seu material nuclear e citoplasmático condensa, e então se quebra em fragmentos ligados por membrana (corpos apoptóticos) que são fagocitados sem inflamação. Além disso, a apoptose pode interceptar o processo que levaria à neoplasia eliminando as células com DNA danificado de forma potencialmente mutagênica.

A apoptose de células danificadas tem valor como processo de reparo somente para tecidos constituídos de células que são constantemente renovadas (p. ex., medula óssea, sistema respiratório, epitélio gastrintestinal e epiderme) ou de células de divisão condicionadas (p. ex., células parenquimais renais e hepáticas), pois as células apoptóticas são constantemente substituídas. O valor da apoptose como estratégia de reparo tecidual é muito diminuído em órgãos contendo células não replicantes ou não substituíveis, tais como neurônios, células do músculo cardíaco e células germinativas femininas.

Proliferação: regeneração do tecido Tecidos são compostos de várias células e matriz extracelular. Caderinas permitem que células adjacentes tenham adesão umas às outras, enquanto conexinas conectam células vizinhas internamente por associação dessas proteínas nas junções existentes entre as células. Integrinas ligam as células à matriz extracelular. Portanto, o reparo de tecidos lesados envolve tanto a regeneração de células perdidas e matriz extracelular quanto a reintegração em tecidos e órgãos dos novos elementos formados.

Substituição, por mitose, de células perdidas Logo após a lesão, as células adjacentes à área danificada entram no ciclo de divisão celular. Células quiescentes em G_0 entram em G_1 e progridem para a mitose (M).

Mudanças sequenciais na expressão gênica ocorrem nas células que são destinadas a se dividir. Após a lesão, a sinalização celular é ativada, e a expressão de vários genes é aumentada. Entre esses chamados genes imediato-prematuros estão aqueles que codificam para TFs que amplificam o processo inicial de ativação gênica por estimulação direta de outros genes ou por receptores de superfície celular e redes acopladas de transdução. Algumas horas depois, são expressos os chamados genes tardios, cujos produtos regulam o ciclo de divisão celular. Genes para as proteínas aceleradoras de ciclo celular e também genes cujos produtos desaceleram o ciclo celular tornam-se temporariamente superexpressos, sugerindo que essa dualidade mantenha a regeneração tecidual precisamente regulada. Assim, a expressão genética é reprogramada de forma que a síntese de DNA e a mitose ganhem prioridade sobre atividades celulares especializadas.

O processo regenerativo é provavelmente iniciado pela liberação de mediadores químicos das células danificadas. Células não parenquimais, tais como macrófagos residentes e células endoteliais, são receptivas a esses sinais químicos e produzem uma série de moléculas sinalizadoras que promovem e propagam o processo regenerativo. As citocinas TNF-α e a interleucina-6 (IL-6) supostamente promovem a transição de células quiescentes para o ciclo celular (*priming*), enquanto os fatores de crescimento, em especial o de hepatócitos (HGF) e o fator de transformação do crescimento α(TGF-α), iniciam a progressão das células primordiais no ciclo para a mitose.

Além da mitose, a migração celular também contribui de maneira significativa para a restituição de certos tecidos. Na mucosa do sistema digestório, células do epitélio residual rapidamente migram para o sítio da lesão, assim como se alongam e afinam para restabelecer a continuidade da superfície mesmo antes de serem alcançadas pelas células em replicação. O reparo da mucosa é ditado por fatores de crescimento, por citocinas que operam no reparo tecidual em outro local e também por peptídeos específicos, associados com as camadas da mucosa do sistema digestório, que se tornam superexpressas em sítios de lesão da mucosa.

Substituição da matriz extracelular A matriz extracelular é composta de proteínas, glicosaminoglicanas, glicoproteínas e proteoglicanas. A ativação das células estreladas é mediada principalmente por dois fatores, fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de transformação do crescimento β(TGF-β), que podem ser liberados de plaquetas que se acumulam e degranulam em sítios de lesão e depois das próprias células estreladas ativadas. A proliferação de células estreladas é induzida pelo potente mitógeno PDGF, enquanto o TGF-β atua nas células estreladas para estimular a síntese de componentes da matriz extracelular, incluindo colágenos, fibronectina, tenascina e proteoglicanas. O TGF-β também desempenha um papel importante na formação da matriz extracelular em outros tecidos.

Reações adversas à lesão tecidual Além dos mediadores que ajudam na substituição de células mortas e da matriz extracelular, macrófagos residentes e células endoteliais ativadas por lesão celular também geram inflamação, produção alterada de proteínas de fase aguda e reações generalizadas, como febre.

Inflamação

Células e mediadores: a alteração da microcirculação e o acúmulo de células inflamatórias são iniciados principalmente por macrófagos residentes que secretam citocinas, tais como TNF-α e IL-1, na resposta à lesão tecidual. Essas citocinas, por sua vez, estimulam células estromais vizinhas, como células endoteliais e fibroblastos, para liberar mediadores que induzem dilatação da microvasculatura local e causam permeabilização dos capilares. As células endoteliais ativadas também facilitam a saída de leucócitos circulantes do tecido lesado pela liberação de quimioatrativos e expressando moléculas de adesão celular. Em seguida, uma interação mais forte (adesão) é estabelecida entre as células endoteliais e os leucócitos com a participação de moléculas de adesão intercelular (p. ex., ICAM-1), e os leucócitos tornam-se aptos a entrar nos tecidos atravessando a camada endotelial. Isso é facilitado pelos gradientes de quimioatrativos, incluindo citocinas quimiotáticas, fator de ativação de plaquetas (PAF) e leucotrieno B4, os quais induzem expressão de integrinas de leucócitos.

Inflamação produz espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio: macrófagos, assim como leucócitos recrutados a um sítio de dano, submetem-se a um *burst* respiratório, produzindo radicais livres e enzimas ativadas. O NAD(P)H oxidase ligado à membrana, ativado em macrófagos e granulócitos, produz ânion radical superóxido ($O_2^{-}\bullet$) a partir do oxigênio molecular. O $O_2^{-}\bullet$ pode dar origem ao radical hidroxila (HO•).

Macrófagos, mas não granulócitos, geram outro radical livre citotóxico, óxido nítrico (•NO), a partir da arginina por óxido nítrico sintase:

$$\text{L-arginina} + O_2 \rightarrow \text{L-citrulina} + \bullet NO$$

Subsequentemente, $O_2^{-}\bullet$ e •NO, ambos produtos de macrófagos ativados, podem reagir um com o outro rendendo o ânion peroxinitrito. Na reação com dióxido de carbono, este decai em dois radicais, dióxido de nitrogênio e ânion radical carbonato:

$$O_2^{-}\bullet + \bullet NO \rightarrow ONOO^{-}$$

$$ONOO^{-} + CO_2 \rightarrow ONOOCO_2^{-}$$

$$ONOOCO_2^{-} \rightarrow \bullet NO_2 + CO_3^{-}\bullet$$

Granulócitos descarregam a enzima mieloperoxidase lisossomal dentro de espaços extracelulares, os vacúolos fagocíticos.

A mieloperoxidase catalisa a formação de ácido hipocloroso a partir do peróxido de hidrogênio e do íon cloreto:

$$HOOH + H^+ + Cl^- \rightarrow HOH + HOCl$$

O HOCl pode formar HO• como resultado de uma transferência de elétrons do Fe^{+2} ou do O_2^{-}• para o HOCl:

$$HOCl + O_2^{-}\bullet \rightarrow O_2 + Cl^- + HO\bullet$$

Todas essas reações químicas, assim como a protease lisossomal descarregada, são produtos destrutivos de células inflamatórias. Embora esses compostos exerçam atividade antimicrobiana, eles podem danificar tecidos saudáveis adjacentes ao sítio da lesão tóxica e contribuir para a propagação da lesão tecidual.

Síntese de proteínas alteradas: proteínas de fase aguda As citocinas liberadas dos macrófagos e de células endoteliais dos tecidos lesados, IL-6, IL-1 e TNF, atuam nos receptores de superfície celular para aumentar ou diminuir a atividade transcricional dos genes que codificam certas proteínas, chamadas proteínas de fase aguda positiva e negativa.

Proteínas de fase aguda positiva podem desempenhar funções na minimização da lesão tecidual, facilitando o reparo. Muitas delas, por exemplo, inibem as proteases lisossomais liberadas das células danificadas e dos leucócitos liberados.

Como as proteínas de fase aguda negativa desempenham papéis na intoxicação e desintoxicação dos xenobióticos, a disposição e a toxicidade dos produtos químicos podem ser muito alteradas durante a fase aguda da lesão tecidual.

Reações generalizadas Citocinas liberadas dos macrófagos ativados e de células endoteliais no sítio da lesão também podem provocar resposta neuro-hormonal. Assim, IL-1, TNF e IL-6 alteram a configuração de temperatura do hipotálamo, desencadeando febre. Além disso, IL-1 e IL-6 atuam na glândula hipofisária para induzir a liberação de ACTH, que estimula a secreção de cortisol das adrenais. Isso representa um *feedback* negativo, pois os corticosteroides inibem a expressão de genes de citocinas.

Mecanismos de adaptação

A adaptação envolve respostas atuando para preservar ou recuperar a homeostase biológica diante do aumento do perigo de um estímulo nocivo. A adaptação da toxicidade pode resultar de mudanças biológicas causando: (1) menor disponibilidade do agente tóxico no alvo de ação; (2) menor suscetibilidade do alvo; (3) capacidade aumentada do organismo de se reparar; e (4) mecanismos fortificados para compensar a disfunção infligida pelo agente tóxico. A adaptação envolve a percepção do agente nocivo e/ou do dano ou disfunção inicial e uma resposta que, em geral, ocorre por expressão genética alterada.

Certos compostos químicos induzem mudanças adaptativas que diminuem sua disponibilidade por redução da absorção, aumento de seu sequestro por ligação a proteínas intracelulares, acréscimo da desintoxicação ou promoção de sua expulsão da célula. A quantidade de ferro ou cádmio na dieta, por exemplo, influencia a expressão de um transportador de metal divalente nos enterócitos e a expressão das proteínas de ligação ferritina e metalotioneína. Outro exemplo envolve a resposta intracelular a eletrófilos. A Figura 3.11 ilustra vários genes que codificam (1) enzimas que desintoxicam xenobióticos; (2) enzimas que eliminam espécies reativas de oxigênio (ROS); (3) proteínas que toxificam heme; (4) enzimas envolvidas na homeostase de glutationa; e (5) transportadores que bombeiam xenobióticos e seus metabólitos para fora das células. Para mais exemplos, sugere-se a consulta da 7ª edição de *Casarett & Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons*.

Quando o reparo falha

Mecanismos de reparo frequentemente falham em proteger contra lesões porque a fidelidade desses mecanismos não é absoluta, sendo que é possível que algumas lesões sejam negligenciadas. O reparo costuma falhar quando o dano sobrepuja os mecanismos de reparo e quando as enzimas ou cofatores necessários são consumidos. Algumas vezes, a lesão induzida pelo agente tóxico afeta o próprio processo de reparo. Por fim, alguns tipos de danos tóxicos não podem ser reparados de forma efetiva, como ocorre quando xenobióticos estão covalentemente ligados a proteínas.

Também é possível que o reparo contribua para a toxicidade, como, por exemplo, quando quantidades excessivas de NAD^+ são clivadas por PARP durante o reparo de fitas de DNA quebradas ou quando muito NAD(P)H é consumido para reparar proteínas e agentes redutores oxidados. Cada evento pode comprometer a fosforilação oxidativa, que é também dependente do suprimento de cofatores reduzidos (ver Fig. 3.8), assim causando ou agravando a depleção de ATP que contribui para a lesão celular. Entretanto, o reparo também pode desempenhar um papel importante na toxicidade. Isso é observado após lesão tecidual crônica, em que o processo de reparo se perde, levando a uma proliferação descontrolada em vez de a um remodelamento do tecido. Tal proliferação pode gerar neoplasias, enquanto a superprodução de matriz extracelular resulta em fibrose.

Toxicidade resultante de falha no reparo

A falha no reparo ocorre em nível molecular, celular e tecidual. Algumas toxicidades envolvem falhas em níveis isolados, tais como enzimas ou processos específicos, ou em níveis diferentes, tais como necrose tecidual, fibrose e carcinogênese química.

Necrose tecidual Diversos mecanismos que podem provocar morte celular podem envolver dano molecular potencialmente reversível por mecanismos de reparo. A lesão celular progride para necrose celular se os mecanismos de reparo molecular são ineficientes ou se o dano molecular não é rapidamente revertido.

A progressão de lesão celular para necrose tecidual pode ser interceptada por dois mecanismos de reparo trabalhando em conjunto: apoptose e proliferação celular. As células lesadas podem iniciar apoptose, que se opõe à progressão da lesão tóxica prevenindo a necrose das células danificadas e a consequente resposta inflamatória.

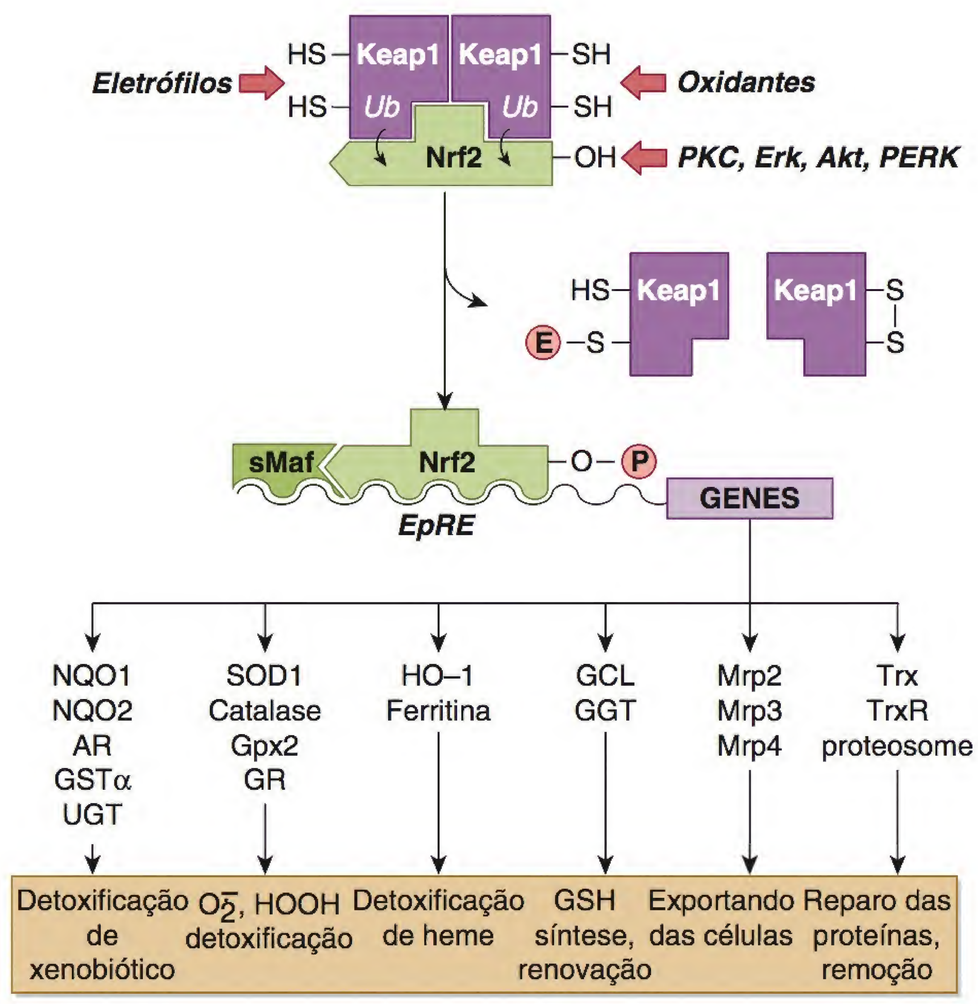


FIGURA 3.11 A sinalização por Keap 1/Nrf 2 medeia a resposta eletrófila. Normalmente, o fator relacionado 2 NF-E2 (Nrf2) é mantido inativo e em baixo nível intracelular com Keap-1, que promove sua degradação proteassomal por ubiquitinação. Eletrófilos se ligam covalentemente aos (ao passo que os oxidantes oxidam) grupos tióis reativos do Keap-1, fazendo com que Keap-1 libere Nrf2. Alternativamente, a liberação de Nrf2 pode seguir a fosforilação do Keap-1 por proteínas quinase. Depois de ser liberado do Keap-1, o Nrf2 ativo acumula-se na célula, transloca-se para o núcleo e forma um heterodímero com as pequenas proteínas Maf para ativar genes que contêm o elemento de resposta eletrófila (EpRE) nas suas regiões promotoras. Estes incluem enzimas, proteínas ligantes e transportadores trabalhando na detoxificação e eliminação de xenobióticos, ROS e substâncias químicas reativas endógenas, assim como proteínas que podem reparar ou eliminar proteínas oxidadas. A indução de tais proteínas representa uma resposta estresse-eletrófila que fornece proteção contra um grande número de agentes tóxicos. *Abreviações*: AR = aldose redutase; G6PDH = glicose-6-fosfato desidrogenase; GCL = glutamato-cisteína ligase; GGT = gama-glutamiltranspeptidase; GPX2 = glutationa peroxidase 2; GR = glutationa redutase; GSTα = glutationa S-transferase subunidade α; HO-1 = heme oxigenase 1; NQO1 = NAD(P)H:quinona oxidorredutase; NQO2 = NRH:quinona oxidorredutase 2; Mpr2, Mrp3 e Mpr4 = proteína de resistência a múltiplas drogas 2, 3 e 4; SOD1 = superóxido dismutase 1; UGT = UDP-glicuronosiltransferase; Trx = tioredoxina; TrxR = tioredoxina redutase.

Outro importante processo de reparo que pode interromper a propagação da lesão tóxica é a proliferação de células adjacentes às células danificadas. Iniciada logo após a lesão celular, essa divisão celular precoce é conhecida por contribuir para a restauração rápida e completa do tecido lesado e prevenção da necrose. A sensibilidade de um tecido à lesão e a capacidade deste para o reparo são aparentemente duas variáveis independentes, ambas influenciando se a restituição do tecido resultará na sobrevivência ou na morte tecidual por necrose.

A eficiência do reparo também é determinante na relação dose-resposta de um agente tóxico que causa necrose. A necrose tecidual é causada por certa dose do agente não somente porque essa dose garante concentração suficiente no sítio de ação, mas também porque causa um dano suficiente para comprometer o reparo, permitindo a progressão da lesão. A necrose tecidual ocorre porque a lesão sobrepuja e desabilita os mecanismos de reparo, incluindo (1) reparo das moléculas danificadas; (2) eliminação das células danificadas por apoptose; e (3) substituição das células perdidas por divisão celular.

Fibrose Fibrose, uma condição patológica caracterizada pela deposição excessiva de uma matriz extracelular de composição anormal, é uma manifestação específica de falha no reparo do tecido lesado. Como já discutido, a lesão celular inicia uma onda de proliferação celular e produção de matriz extracelular, que normalmente para quando o tecido lesado é remodelado. Se a produção aumentada de matriz extracelular não é interrompida, a fibrose se desenvolve.

O TGF-β parece ser o principal mediador da fibrinogênese. A expressão aumentada de TGF-β é uma resposta comum ante a regeneração da matriz extracelular depois de uma lesão aguda. Normalmente, a produção de TGF-β cessa quando o reparo está completo. A falha na parada dessa superprodução, que leva à fibrose, pode ser causada por lesões contínuas ou por um defeito na regulação de TGF-β.

A ação fibrótica do TGF-β ocorre por meio de (1) estimulação da síntese de componentes individuais da matriz por células-alvo específicas; e (2) inibição da degradação da matriz. De maneira interessante, o TGF-β induz transcrição do seu próprio gene nas células-alvo, sugerindo que o TGF-β produzido por essas células possa amplificar de forma autócrina a produção da matriz extracelular. Esse *feedback* positivo pode facilitar a fibrinogênese.

A fibrose envolve não somente a acumulação excessiva da matriz extracelular, mas também mudanças na sua composição. Os componentes da membrana basal, tais como colágenos e laminina, aumentam de forma desproporcional durante a fibrinogênese.

Carcinogênese A carcinogênese química envolve a função inapropriada de vários mecanismos de reparo, incluindo (1) falha no reparo ao DNA; (2) falha na apoptose; e (3) falha em encerrar a proliferação celular.

Falha no reparo ao DNA: mutação, o evento inicial da carcinogênese Lesões químicas e físicas podem induzir a transformação neoplásica das células por mecanismos genotóxicos e não genotóxicos. Substâncias químicas que reagem com o DNA podem causar danos pela formação de adutos, alterações oxidativas e quebra de fita. Se essas lesões não são reparadas ou se as células lesadas não são eliminadas, uma lesão na fita de DNA parental pode induzir alterações hereditárias, ou mutações, na fita filha durante a replicação. O pior cenário para o organismo ocorre quando genes alterados expressam proteínas mutantes que reprogramam células para a multiplicação. Quando tais células se submetem à mitose, suas descendentes também têm uma propensão similar à proliferação. Além disso, como a maior taxa de divisão aumenta a probabilidade de mutação, essas células, por fim, adquirem mutações adicionais que podem levar a um crescimento anormal ante seus homólogos normais. O resultado final desse processo é um tumor consistindo de células transformadas e de rápida proliferação.

Mutação de proto-oncogenes: proto-oncogenes são genes altamente conservados que codificam proteínas que estimulam a progressão das células pelo ciclo celular. Os produtos dos proto-oncogenes incluem: (1) fatores de crescimento; (2) receptores para fatores do crescimento; (3) transdutores de sinal intracelular, tais como proteína G, proteínas quinase, ciclinas e proteínas quinase dependentes de ciclinas; e (4) TFs nucleares. Aumentos transitórios na produção ou atividade das proteínas proto-oncogenes são adquiridos pelo crescimento regulado, como durante a embriogênese, regeneração tecidual e estimulação das células por fatores de crescimento ou hormônios. Em contraste, a ativação permanente e/ou superexpressão dessas proteínas favorece a transformação neoplásica. Um mecanismo pelo qual a carcinogênese genotóxica induz a transformação em uma célula neoplásica é produzindo uma mutação ativa de um proto-oncogene. O gene alterado (chamado de *oncogene*) codifica uma proteína permanentemente ativa que induz a célula para o ciclo de divisão celular.

Um exemplo de ativação mutacional de uma proteína derivada de oncogene é o das proteínas Ras. Elas estão localizadas na superfície interna da membrana plasmática e funcionam como mediadoras cruciais na resposta iniciada pelos fatores de crescimento (ver Fig. 3.7). O Ras atua como um interruptor molecular, sendo ativo na forma ligada ao GTP e inativo na forma ligada ao GDP. Algumas mutações do gene Ras diminuem muito a atividade de GTPase da proteína, o que mantém o Ras permanentemente na forma ativa (ligado ao GTP). A contínua ativação de Ras (não dependente de sinalização) pode, por fim, provocar proliferação incontrolada e transformação.

Mutação de genes supressores de tumor: genes supressores de tumor codificam proteínas que inibem a progressão das células no ciclo de divisão celular, as quais incluem inibidores de proteína quinase ciclina-dependente, TFs que transativam genes que codificam inibidores de proteína quinase ciclina-dependente e proteínas que bloqueiam TFs envolvidos na síntese de DNA e divisão celular (ver Fig. 3.12).

O gene supressor de tumor p53 codifica uma proteína de 53-kDa com múltiplas funções. Atuando como um TF, a proteína p53 transativa genes cujos produtos param o ciclo celular ou promovem apoptose e reprime genes que codificam proteínas antiapoptóticas. O dano ao DNA e a expressão ilegítima de oncogenes estabilizam a proteína p53, causando seu acúmulo, induzindo parada do ciclo celular (permitindo reparo do DNA) ou mesmo a apoptose das células afetadas.

Cooperação de proto-oncogenes e genes supressores de tumor na carcinogênese: o acúmulo de dano genético na forma de (1) proto-oncogenes mutantes (que codificam proteínas ativadas); e (2) genes supressores de tumor mutantes (que codificam proteínas inativadas) é a principal força motriz na transformação de células normais com atividade proliferativa controlada em células malignas com atividade proliferativa descontrolada. Como o número de células nos tecidos é regulado por um balanço entre mitose e apoptose, a proliferação descontrolada resulta da perturbação desse balanço.

Falha da apoptose: promoção de mutação e crescimento clonal Células pré-neoplásicas, ou células com mutações, têm atividade apoptótica muito maior do que células normais. Portanto, a apoptose neutraliza a expansão clonal das células iniciadas e tumorais. A facilitação da apoptose pode induzir regressão tumoral, enquanto sua inibição é prejudicial porque mutações e expansão clonal das células pré-neoplásicas são favorecidas.

Falha no encerramento da proliferação: promoção de mutação, expressão de proto-oncogenes e crescimento clonal A atividade mitótica aumentada promove carcinogênese por diversas razões:

1. A atividade mitótica elevada aumenta a probabilidade de mutações. Com a ativação do ciclo de divisão celular, ocorre um encurtamento substancial da fase G1 e menos tempo está disponível para o reparo do DNA danificado antes da replicação.
2. A superprodução de proteínas proto-oncogenes pode cooperar com proteínas oncogenes para facilitar a transformação neoplásica das células. Isso deixa menos tempo para a metilação do DNA, que diminui a transcrição genética inibindo a interação de TFs com a região promotora. Genes não expressos estão totalmente metilados.
3. A comunicação célula-célula por meio de junções entre elas e a adesão intercelular por meio de caderinas estão temporariamente interrompidas durante a proliferação, o que contribui para a invasividade do tumor.

Carcinogênese não genotóxica: promotores de mitose e inibidores de apoptose Muitos compostos químicos não alteram o DNA ou induzem mitose, ainda que induzam câncer após a administração crônica. Esses compostos, chamados *não genotóxicos* ou *carcinógenos epigenéticos*, causam câncer pela promoção

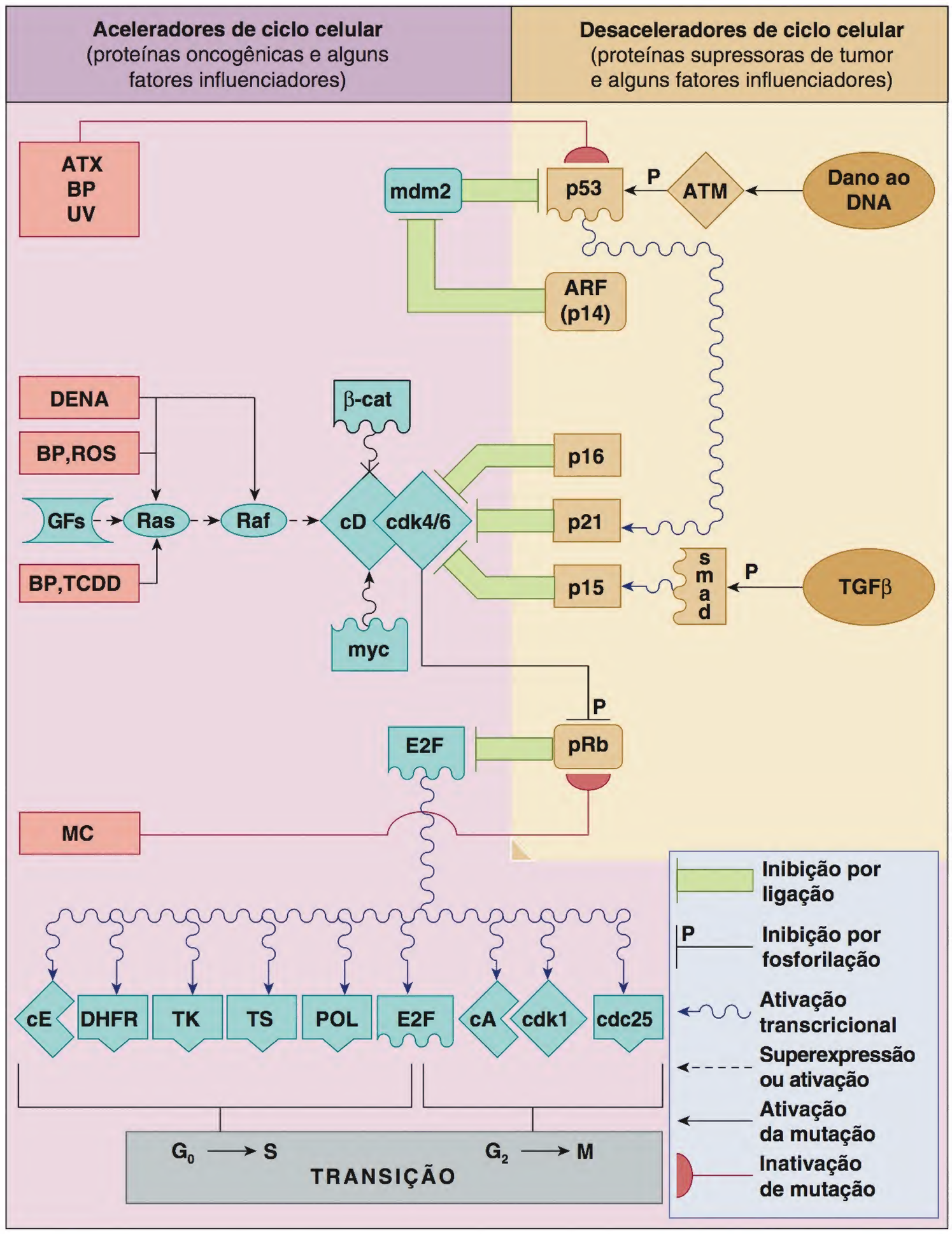


FIGURA 3.12 Proteínas regulatórias chave no controle do ciclo de divisão celular com algumas etapas de sinalização e xenobióticos afetando-as. Proteínas à esquerda, representadas por símbolos azuis, aceleram o ciclo celular e são oncogênicas se permanentemente ativas ou expressas em altas taxas. Em contraste, proteínas à direita, representadas por símbolos salmão, desaceleram ou interrompem o ciclo celular e, assim, suprimem a oncogênese, a menos que estejam inativadas (p. ex., por mutação). A ciclina D (cD) ativa proteínas quinase ciclina-dependentes 4 e 6 (cdk4/6), que, por sua vez, fosforilam a proteína retinoblastoma (pRb) causando dissociação do pRb do fator de transcrição E2F. O E2F liberado liga-se e transativa genes cujos produtos são essenciais para a síntese de DNA (p. ex., dihidrofolato redutase [DHFR], timidina quinase [TK], timidilato sintetase [TS] e DNA polimerase [POL]) ou são proteínas regulatórias (p. ex., ciclina E [cE], ciclina A [cA] e proteína quinase dependente de cilcina 1 [cdk1]) que promovem posterior progressão do ciclo celular. A expressão de cD é aumentada, por exemplo, por sinais oriundos de fatores de crescimento (GFs) via proteínas Ras e por fatores de transcrição, tais como myc e β-catenina (β-cat). Benzopireno (BP), espécies reativas de oxigênio (ROS) e dietilnitrosamina (DENA) podem causar mutação dos genes Ras ou Raf, que resulta em uma proteína Ras mutante permanentemente ativa, mas BP e TCDD podem também induzir superexpressão da proteína Ras normal. A progressão do ciclo celular é neutralizada por pRb (que inibe a função de E2F), inibidores de proteína quinase ciclina-dependente (tais como p15, p16 e p21), p53 (que transativa o gene p21) e ARF (também chamado de p14, que se liga ao mdm2, neutralizando, assim, o efeito antagonista do mdm2 sobre o p53). Os sinais desencadeados pelo dano ao DNA e ao TGF-β resultarão, em última análise, em acúmulo de proteínas p53 e p15, respectivamente, e desaceleração do ciclo celular. Em contraste, mutações que desabilitam as proteínas de supressão de tumor facilitam a progressão do ciclo celular e a conversão neoplásica e são comuns em tumores humanos. Aflatoxina B1 (ATX), BP e luz UV causam tais mutações do gene p53.

da carcinogênese iniciada por agentes genotóxicos ou dano espontâneo ao DNA. Esse dano espontâneo normalmente ocorre em células humanas normais na razão de 1 para 10^8 a 10^{10} pares de base. Carcinógenos não genotóxicos aumentam a frequência de mutações espontâneas por meio do efeito mitogênico e por inibição da apoptose, aumentando, assim, o número de células com DNA danificado ou mutações.

A lesão celular provoca a liberação de fatores de crescimento mitogênico, tais como HGF e TGF-α dos macrófagos do tecido e das células endoteliais. Assim, células de tecidos cronicamente lesados estão expostas de forma contínua a mitógenos endógenos. Embora esses fatores de crescimento contribuam para o reparo tecidual após a lesão celular aguda, sua presença contínua é potencialmente perigosa, porque eles podem transformar as células afetadas em células neoplásicas. É importante perceber que mesmo carcinógenos epigenéticos podem exercer efeito genotóxico, embora indiretamente.

CONCLUSÕES

A toxicidade seletiva ou alterada pode ser causada pela modificação dos seguintes fatores: (1) exposição; (2) distribuição, resultando, assim, em uma concentração diferente do agente tóxico no sítio de ação; (3) alvos moleculares; (4) processos bioquímicos desencadeados pela reação do agente em questão com alvos moleculares; (5) reparo em nível molecular, celular ou tecidual; ou (6) mecanismos como reflexos circulatórios ou termorregulatórios pelos quais o organismo afetado pode adaptar alguns dos efeitos tóxicos. Embora um esquema simplificado esboce o desenvolvimento da toxicidade (Fig. 3.1), sua rota pode ser considerada mais diversa e complicada. Um organismo dispõe de mecanismos que (1) neutralizam a distribuição de agentes tóxicos, como detoxificação; (2) revertem a lesão tóxica, como os mecanismos de reparo; e (3) compensam algumas disfunções, como as respostas adaptativas. Assim, a toxicidade não é uma consequência inevitável da exposição a um agente tóxico porque pode ser prevenida, revertida ou compensada por tais mecanismos. A toxicidade desenvolve-se se o agente exaure ou prejudica os mecanismos de proteção e/ou destrói a adaptabilidade dos sistemas biológicos.

REFERÊNCIAS

Bursch W, Karwan A, Mayer M, et al: Cell death and autophagy: cytokines, drugs, and nutritional factors. *Toxicology* 254:147–157, 2008.

Cribb AE, Peyrou M, Muruganandan S, Schneider L: Th e endoplasmic reticulum in xenobiotic toxicity. *Drug Metab Rev* 37:405–442, 2005.

Giordano A: *Cell Cycle Control and Dysregulation Protocols: Cyclins, Cyclin-dependent Kinases, and Other Factors*. Totowa, NJ: Humana Press, 2004.

Hansen JM, Go Y-M, Jones DP: Nuclear and mitochondrial compartmentation of oxidative stress and redox signaling. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 46:215–234, 2006.

Hancock JT: *Cell Signalling*. New York: Oxford University Press, 2005.

Karunagaran D, Joseph J, Kumar TR: Cell growth regulation. *Adv Exp Med Biol* 595:245–268, 2007.

Liu X, Van Fleet T, Schnellmann RG: The role of calpain in oncotic cell death. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 44:349–370, 2004.

McGowan CH, Russell P: Th e DNA damage response: sensing and signaling. *Curr Opin Cell Biol* 16:629–633, 2004.

Mehendele HM: Tissue repair: an important determinant of fi nal outcome of toxicant-induced injury. *Toxicol Pathol* 33:41–51, 2005.

Pober JS, Min W, Bradley JR: Mechanisms of endothelial dysfunction, injury and death. *Annu Rev Pathol* 4:71–95, 2009.

Orrenius S: Mitochondrial regulation of apoptotic cell death. *Toxicol Lett* 149:19–23, 2004.

Toivola DM, Eriksson JE: Toxins aff ecting cell signalling and alteration of cytoskeletal structure. *Toxicol In Vitro* 13:521–530, 1999.

Wallace KB: Mitochondrial off targets of drug therapy. *Trends Pharmacol* Sci 29:361–366, 2008.

QUESTÕES

1. A gravidade de um toxicante depende, em grande parte, de sua concentração em seu sítio de ação. Qual das seguintes alternativas diminuirá a quantidade de toxicante que alcança seu sítio de ação?
   a. Absorção através da pele
   b. Excreção via renal
   c. Ativação metabólica
   d. Reabsorção pela mucosa intestinal
   e. Células epiteliais descontínuas dos sinusoides hepáticos

2. Ativação metabólica é a biotransformação de um toxicante para uma espécie mais tóxica e reativa. Qual das seguintes alternativas não é uma espécie química reativa comumente formada por ativação metabólica?
   a. Eletrófilos
   b. Nucleófilos
   c. Ânions superóxidos
   d. Radicais hidroxila
   e. Ácidos orgânicos hidrofílicos

3. Qual das seguintes alternativas não é uma etapa importante na detoxificação de compostos químicos?
   a. Formação de reagentes redox-ativos
   b. Redução de peróxido de hidrogênio por glutationa peroxidase
   c. Formação de peróxido de hidrogênio por superóxido dismutase
   d. Redução de dissulfeto de glutationa (GSSG) por glutationa redutase (GR)
   e. Conversão de peróxido de hidrogênio a água e oxigênio molecular por catalase

4. Com relação à interação do composto tóxico com sua molécula-alvo, qual das seguintes alternativas é falsa?
   a. Toxicantes frequentemente oxidam ou reduzem suas moléculas-alvo, resultando na formação de subprodutos nocivos.
   b. A ligação covalente de um toxicante com sua molécula-alvo altera permanentemente sua função.
   c. A ligação não covalente de um toxicante a um canal iônico inibe irreversivelmente o fluxo iônico pelo canal.
   d. A abstração de átomos de hidrogênio de compostos endógenos por radicais livres pode resultar na formação de adutos de DNA.
   e. Vários toxicantes podem agir enzimaticamente em suas proteínas alvo-específicas.

5. Todas as alternativas seguintes são efeitos comuns de compostos tóxicos nas suas moléculas-alvo, com EXCEÇÃO de:
   a. Bloqueio de receptores de neurotransmissor
   b. Interferência com replicação de DNA devido à formação de aduto
   c. *Cross-linking* de moléculas endógenas
   d. Abertura de canais iônicos
   e. Desencadeamento de uma resposta imune

6. Qual das seguintes proteínas age para prevenir a progressão do ciclo celular?
   a. NF-KB
   b. MAPK
   c. CREB
   d. c-Myc
   e. IkB

7. Qual das seguintes alternativas teria maior impacto negativo nos níveis intracelulares de ATP?
   a. Diminuição moderada de ingestão calórica
   b. Interferência na disponibilização dos elétrons na sua cadeia de transporte
   c. Inabilidade de captar ATP da glicólise
   d. Aumento da síntese de biomoléculas
   e. Divisão celular ativa

8. O que acontece quando um toxicante induz elevação de níveis citoplasmáticos de cálcio?
   a. A absorção mitocondrial de cálcio dissipa o gradiente eletroquímico necessário para sintetizar ATP.
   b. A formação de filamentos de actina aumenta a força e a integridade do citoesqueleto.
   c. A atividade intracelular de proteases, nucleases e fosfolipases diminui.
   d. A célula torna-se inativa até que o cálcio seja ativamente bombeado para fora da célula.
   e. A geração de espécies reativas de oxigênio reduz por causa da diminuição da atividade do ciclo TCA induzido por cálcio.

9. O citocromo *c* é uma molécula importante na iniciação da apoptose nas células. Todas as alternativas seguintes sobre o citocromo *c* são verdadeiras, EXCETO:
   a. A liberação de citocromo *c* no citoplasma é uma etapa importante na iniciação da apoptose.
   b. A perda de citocromo *c* da cadeia de transporte de elétrons bloqueia a síntese de ATP por fosforilação oxidativa.
   c. A perda de citocromo *c* da membrana interna mitocondrial resulta no aumento da formação de espécies reativas de oxigênio.
   d. As proteínas Bax medeiam a liberação de citocromo *c*.
   e. Caspases são proteases que aumentam os níveis citoplasmáticos de citocromo *c*.

10. Todas as alternativas seguintes com relação ao reparo de DNA são verdadeiras, EXCETO:
   a. Em uma lesão que não causa grande distorção da dupla hélice, a base incorreta é clivada e a base correta é inserida em seu lugar.
   b. O reparo por excisão de base e o reparo por excisão e nucleotídeo são ambos dependentes de uma DNA polimerase e uma DNA ligase.
   c. Em reparo por excisão de nucleotídeo, apenas o aduto é clivado, e a lacuna é preenchida pela DNA polimerase.
   d. Dímeros de pirimidina podem ser clivados e reparados diretamente pela DNA fotoliase.
   e. O reparo recombinante requer que uma fita irmã sirva de modelo para completar o nucleotídeo ausente.

11. A apoptose pode servir como um processo de reparo tecidual em inúmeros tipos celulares. Em qual dos seguintes tipos celulares este seria um mecanismo plausível de reparo tecidual?
    a. Células germinativas femininas
    b. Epitélio gastrintestinal
    c. Neurônios
    d. Células ganglionares da retina
    e. Células musculares cardíacas

12. Qual das seguintes alternativas NÃO está associada à carcinogênese?
    a. Mutação
    b. Função normal de p53
    c. Ativação de Ras
    d. Inibição de apoptose
    e. Falha no reparo de DNA

CAPÍTULO

4

Avaliação do Risco

Elaine M. Faustman e Gilbert S. Omenn

INTRODUÇÃO E CONTEXTO HISTÓRICO

DEFINIÇÕES

TOMADA DE DECISÃO

IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO

Métodos de avaliação da toxicidade de compostos químicos

Relações estrutura/atividade

Testes *in vitro* e de curta duração

Bioensaios com animais

Uso de dados epidemiológicos na avaliação do risco

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA

Integração dos aspectos quantitativos da avaliação do risco

Abordagens limítrofes

Abordagens não limítrofes

Modelos derivados de hipóteses baseadas em mecanismos

Aprimoramento toxicológico dos modelos

CARACTERIZAÇÃO DO RISCO

Variação na suscetibilidade

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO

FONTES DE INFORMAÇÃO

PERCEPÇÃO DO RISCO E ANÁLISES COMPARATIVAS DO RISCO

RESUMO

PONTOS-CHAVE

- *Avaliação do risco* é a caracterização científica sistemática dos potenciais efeitos adversos à saúde resultantes da exposição humana a agentes ou situações perigosas.
- *Risco* é definido como a probabilidade de ocorrer um efeito adverso sob condições específicas.
- *Gerenciamento do risco* refere-se ao processo de tomada de decisões políticas para controlar situações perigosas.

INTRODUÇÃO E CONTEXTO HISTÓRICO

Pesquisas em toxicologia e ensaios de toxicidade conduzidos e interpretados por toxicologistas constituem o núcleo científico de uma importante atividade conhecida como *avaliação do risco* à exposição a substâncias químicas. O National Research Council, dos Estados Unidos, detalhou no documento Avaliação do Risco no Governo Federal: Gerenciando o processo (*Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process)* (documento conhecido como Livro Vermelho – *The Red Book*) as etapas da avaliação do risco: identificação do perigo, avaliação da dose-resposta, análise de exposição e caracterização dos riscos. A Figura 4.1 mostra um esquema consistente para a avaliação do risco pelas agências regulatórias por meio de setas bidirecionais mostrando uma situação ideal na qual a pesquisa mecanística supre diretamente a avaliação do risco, e a incerteza dos dados direciona a pesquisa. Com frequência, os objetivos das políticas públicas requerem extrapolações que vão além da observação dos efeitos reais e refletem tolerâncias diferentes aos riscos, gerando controvérsias.

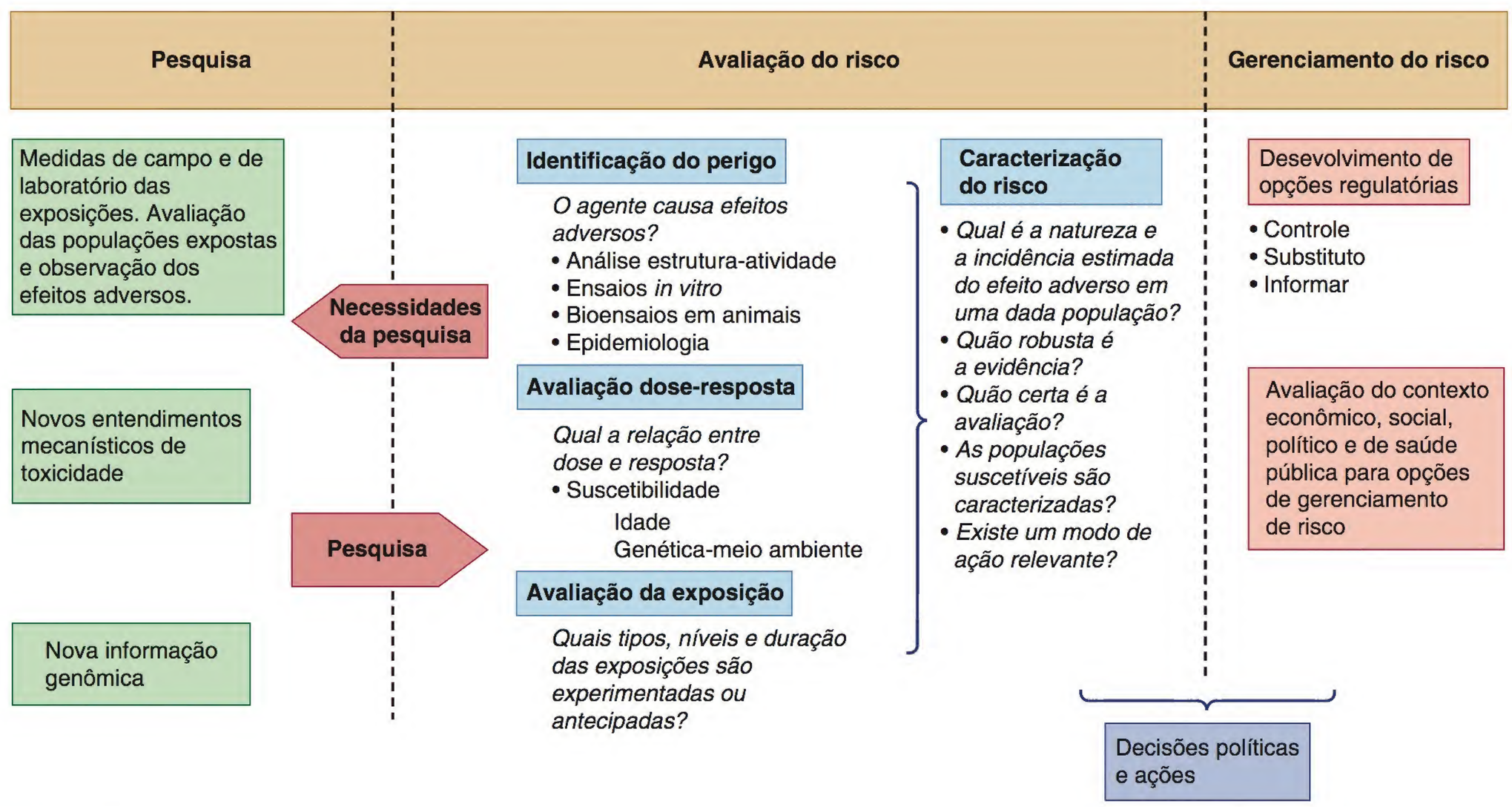


FIGURA 4.1 Esquema de avaliação/gerenciamento do risco. Este esquema mostra, em azul, as quatro etapas principais da avaliação do risco: identificação do perigo, avaliação da dose-resposta, avaliação da exposição e caracterização do risco. Ela mostra um processo interativo de duas vias, no qual a necessidade de pesquisa decorrente do processo de avaliação do risco direciona a novas pesquisas, e as descobertas das novas pesquisas modificam os resultados da avaliação do risco. (Adaptada de NRC, *Risk Assessment in the Federal Government: Managing the Process*, Washington, DC: National Academies Press, 1993, reimpressa com permissão da National Academies Press, National Academy of Sciences).

A Presidential/Congressional Commission on Risk Assessment and Risk Management propôs um esquema que aplica dois conceitos cruciais: (1) colocar cada problema ou questão ambiental no contexto ecológico e/ou de saúde pública; e (2) envolver proativamente as partes interessadas relevantes e as comunidades afetadas ou potencialmente afetadas desde o início dos seis estágios da avaliação do risco indicados na Figura 4.2. Situações particulares de exposição e de efeitos potenciais à saúde devem ser avaliadas pelas fontes e etapas de exposição buscando vários *endpoints*, e não pela abordagem generalizada atual de avaliar, para cada efeito à saúde, um composto químico em um único meio (ar, água, solo, alimento e produtos) em um determinado tempo.

DEFINIÇÕES

Avaliação do risco é a caracterização científica sistemática de efeitos adversos potenciais relacionados à saúde resultantes da exposição humana a agentes ou situações perigosas. *Risco* é definido como a probabilidade de ocorrência de um efeito adverso com base na exposição e potência de um (ou mais) agente(s) perigoso(s). O termo *perigo* é usado nos Estados Unidos e no Canadá para se referir às propriedades tóxicas intrínsecas, enquanto internacionalmente o termo é definido como a probabilidade de ocorrência de um efeito adverso. A avaliação do risco requer informações qualitativas sobre o peso da evidência e a natureza dos efeitos – bem como sobre a avaliação quantitativa das exposições, dos fatores de suscetibilidade do hospedeiro e da magnitude potencial do risco – e, então, a descrição das incertezas nas estimativas e conclusões. Os objetivos da avaliação do risco são indicados na Tabela 4.1.

O termo *caracterização do risco* reflete a combinação de análises qualitativas e quantitativas. Infelizmente, muitas pessoas tendem a equiparar avaliação do risco com avaliação quantitativa do risco, gerando um número excessivamente preciso para estimativa do risco, ao mesmo tempo em que ignoram informações cruciais sobre o mecanismo do efeito em diferentes espécies, os resultados inconsistentes entre os estudos, os efeitos múltiplos e variáveis à saúde e os meios de evitar ou reverter os efeitos das exposições.

O esquema compreende seis estágios: (1) formulação do problema no contexto amplo de saúde pública; (2) análise dos riscos; (3) definição de opções; (4) tomada de decisões de redução do risco; (5) implementação dessas ações; e (6) avaliação da eficácia das ações tomadas. Interações com as partes interessadas são críticas e, por isso, foram colocadas no centro do esquema.

TABELA 4.1 Objetivos da avaliação do risco

1. Balancear riscos e benefícios • Medicamentos • Praguicidas
2. Definir níveis do risco • Contaminantes de alimentos • Poluentes da água
3. Definir prioridades para atuação • Agências regulatórias • Fabricantes • Organizações ambientais e de consumidores
4. Estimar os riscos residuais e a extensão da redução do risco após tomadas de decisões para reduzir riscos

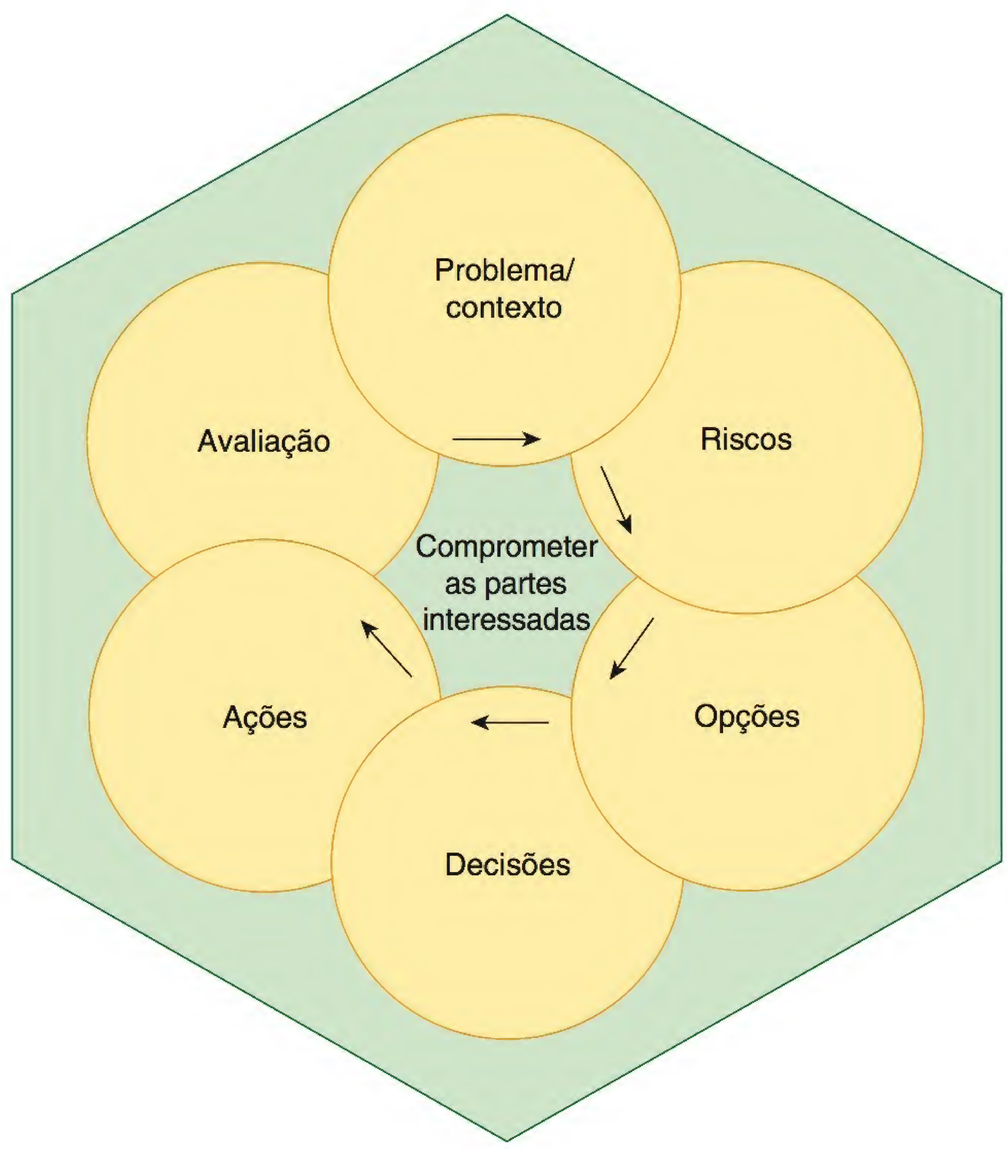


FIGURA 4.2 Esquema de gerenciamento do risco para saúde ambiental da U.S. Commission on Risk Assessment and Risk Management, "Omenn Commission". O esquema compreende seis etapas: (1) a formulação do problema no contexto amplo da saúde pública; (2) análise de riscos; (3) definição de opções; (4) tomada de decisões de redução de riscos; (5) implementação dessas ações; e (6) avaliação da efetividade das ações tomadas. O engajamento de todos os intervenientes é fundamental e, por isso, foi colocado no centro da figura.

Gerenciamento do risco refere-se ao processo pelo qual ações políticas são escolhidas para controlar os perigos identificados na etapa de avaliação/caracterização do risco, indicada no esquema de seis estágios da Figura 4.2. Os gerentes do risco consideram as evidências científicas e as estimativas do risco – junto com fatores legais, de engenharia, econômicos, sociais e políticos – para avaliar alternativas e escolher entre essas opções.

Comunicação do risco é o desafiador processo de tornar as informações de avaliação do risco e de gerenciamento do risco compreensíveis a grupos da comunidade, advogados, representantes locais eleitos, juízes, executivos, trabalhadores e ambientalistas. Um requerimento crucial e frequentemente negligenciado para a comunicação é ouvir as apreensões, as percepções, as prioridades e as propostas de soluções das "partes interessadas".

TOMADA DE DECISÃO

Decisões de gerenciamento do risco são alcançadas com base em diversos regulamentos nos Estados Unidos e em muitos outros países. Alguns regulamentos especificam a confiança somente no risco, enquanto outros requerem um balanço dos riscos e dos benefícios do produto ou da atividade (Tab. 4.1). A avaliação do risco fornece um esquema importante no estabelecimento de prioridades dentro das agências regulatórias e de saúde, nos processos de desenvolvimento de substâncias químicas pelas indústrias e na alocação de recursos pelas organizações ambientais. Atualmente, esforços significantes vêm sendo realizados em direção à harmonização dos protocolos de testes e da avaliação dos riscos e padrões.

O maior desafio para a avaliação do risco, a comunicação do risco e o gerenciamento do risco é o de trabalhar de forma interdisciplinar para demonstrar a plausibilidade biológica e a significância clínica das conclusões dos estudos com compostos que possam apresentar efeitos adversos. Biomarcadores de exposição, de efeito ou de suscetibilidade individual podem relacionar a presença de uma substância em vários compartimentos ambientais com as respostas locais específicas de ação em órgãos-alvo e no hospedeiro. Comportamento individual e fatores sociais de risco podem ser muito importantes tanto para o risco em si como para sua redução. Por fim, atitudes do público e da mídia para com agentes poluidores locais, outras partes responsáveis e agências governamentais relevantes podem influenciar de forma importante os processos de comunicação e as escolhas para o gerenciamento do risco.

IDENTIFICAÇÃO DO PERIGO

Métodos de avaliação da toxicidade de compostos químicos

Relações estrutura/atividade Considerando o custo de 2 a 4 milhões de dólares e o tempo de 3 a 5 anos necessário para testar um único composto em um único ensaio de carcinogenicidade durante toda a vida do animal em roedores, decisões sobre a continuidade do desenvolvimento de uma substância, a submissão de uma notificação de pré-fabricação ou a requisição de testes adicionais podem estar amplamente fundamentadas nas relações estrutura/atividade e em ensaios de curta duração. A estrutura química, a solubilidade, a estabilidade, a sensibilidade ao pH, a eletrofilicidade, a volatilidade e a reatividade de um composto podem ser informações importantes para a identificação do perigo.

A relação estrutura-atividade (SAR) tem sido usada para avaliação de misturas complexas. Entretanto, é difícil predizer a atividade entre as diferentes classes químicas e, especialmente, entre múltiplos efeitos tóxicos usando uma única resposta biológica. Métodos de SAR computadorizados têm mostrado resultados limitados, enquanto a modelagem molecular tridimensional (3D), que utiliza mapeamento farmacofórico, busca 3D e desenho molecular, e o estabelecimento de relações quantitativas estrutura-atividade 3D, têm sido mais bem-sucedidos.

Testes *in vitro* e de curta duração A próxima abordagem para identificação do perigo compreende testes que vão de ensaios de mutação bacteriana *in vitro* a ensaios de curta duração mais elaborados, como, por exemplo, os estudos de pintura da pele em camundongos ou de ensaios *in vivo* de pesquisa de focos hepáticos alterados em ratos. Outros ensaios avaliam desenvolvimento, reprodução, neurotoxicidade e imunotoxicidade. Novos métodos de biologia molecular e de desenvolvimento para avaliação do risco toxicológico para o desenvolvimento podem acelerar o uso de uma variedade maior de organismos-modelo e de abordagens para ensaios de avaliação do risco não carcinogênico. Validação e aplicação de ensaios de curta duração são particularmente importantes para a avaliação do risco porque podem fornecer infor-

mações sobre os mecanismos dos efeitos observados, sendo mais rápidos e mais baratos do que os ensaios de longo prazo.

Bioensaios com animais Os dados derivados de bioensaios com animais são componentes fundamentais para o processo de identificação do perigo. Uma premissa básica da avaliação do risco é que substâncias químicas que causam tumores em animais podem causar tumores em seres humanos. Todos os carcinógenos humanos que foram adequadamente testados em animais produziram resultados positivos em, ao menos, um modelo animal. Embora essa associação não possa estabelecer que todos os agentes químicos e misturas que causam câncer em animais de experimentação também o fazem em seres humanos, na ausência de dados adequados em humanos, é biologicamente plausível e prudente considerar que as substâncias para as quais existe evidência suficiente de carcinogenicidade em animais de experimentação possam apresentar risco carcinogênico a humanos – uma reflexão do "princípio da precaução". A Agência Americana de Proteção Ambiental (United States Environmental Protection Agency – USEPA) considera relevantes os ensaios em animais, a menos que a falta de relevância para humanos esteja especificamente determinada. Em geral, os bioensaios mais apropriados em roedores são aqueles que testam as vias de exposição de maior relevância para predizer ou determinar as vias de exposição humana. Bioensaios para toxicidade reprodutiva ou de desenvolvimento e outros ensaios não carcinogênicos usam o mesmo raciocínio.

Características consistentes no desenho de bioensaios de carcinogenicidade incluem a avaliação em duas espécies e em ambos os sexos, com 50 animais por grupo de dose e exposição aproximada pelo tempo de vida desses animais. Escolhas importantes incluem as linhagens dos ratos e camundongos, o número e os níveis de dose (em geral 90, 50 e 10 a 25% da dose máxima tolerada [MTD]) e os detalhes da histopatologia (número de órgãos a serem examinados, tempos para sacrifício dos animais, etc.). Uma evidência positiva de carcinogenicidade química pode incluir aumento do número de tumores em uma região de um órgão em particular, indução de tumores raros, indução prematura (redução do tempo de latência) de tumores normalmente observados e/ou aumento no número total de tumores.

Existem graves problemas no uso das informações sobre identificação de perigo provenientes de bioensaios de roedores para avaliação do risco quantitativo. Isso ocorre devido à limitação de informações de dose-resposta disponíveis nesses bioensaios e à inexistência de informação sobre respostas para exposições ambientalmente relevantes. Assim, os resultados têm sido tradicionalmente extrapolados de uma curva dose-resposta no intervalo de 10 a 100% da resposta tumoral biologicamente observável até uma estimativa do risco de 10^{-6} (limite superior de confiança) ou para um risco relacionado a uma dose de referência.

Pesquisas sobre os mecanismos e a avaliação de outros parâmetros não carcinogênicos no desenho experimental representam melhoras importantes nos bioensaios de longa duração. É factível e desejável unir esses bioensaios com testes de curta duração mecanisticamente orientados e biomarcadores e estudos genéticos com doses menores do que aquelas que levam ao desenvolvimento de tumores, ajudando a direcionar as questões de extrapolação em várias ordens de magnitude para predizer a resposta em doses ambientalmente relevantes.

Em uma tentativa de melhorar a predição do risco de câncer em humanos, modelos com camundongos transgênicos têm sido desenvolvidos como possíveis alternativas para o bioensaio de 2 anos para câncer. Empregando camundongos que incorporam ou eliminam um gene relacionado ao câncer em humanos, esses modelos transgênicos permitem melhorar a caracterização de processos celulares-chave e do modo de ação das respostas toxicológicas. Sugere-se que esses modelos não devam substituir os ensaios de 2 anos, mas ser usados em conjunto para ajudar na interpretação de evidências toxicológicas e mecanísticas adicionais.

Uso de dados epidemiológicos na avaliação do risco A linha de evidências mais convincente para o risco humano é um estudo epidemiológico bem conduzido em que uma associação positiva entre a exposição e a doença possa ser observada. A Tabela 4.2 mostra exemplos de desenhos de estudos epidemiológicos e fornece informações sobre os tipos de desfechos e as exposições avaliadas. Nesses estudos, existem limitações importantes. Quando o estudo é exploratório, as hipóteses são frequentemente fracas. As estimativas de exposição são, em geral, brutas e retrospectivas, em especial para condições de latência longa antes do aparecimento de manifestações clínicas. Normalmente, existem exposições múltiplas, sobretudo quando toda a vida do indivíduo é considerada. Sempre existe uma dualidade entre informações detalhadas de um número relativamente pequeno de indivíduos, e informações muito limitadas em um grande número de pessoas. Contribuições de fatores de estilo de vida, como fumo e dieta, constituem um desafio a esclarecer. Seres humanos são altamente miscigenados, tanto que o método deve considerar variações na suscetibilidade entre as pessoas expostas.

Apesar disso, os estudos de epidemiologia humana fornecem informações muito úteis para a identificação do perigo e, algumas vezes, informações quantitativas para a caracterização dos dados. Os três tipos principais de desenhos de estudos epidemiológicos disponíveis são: estudos transversais, estudos de coorte e estudos caso-controle (Tab. 4.2). Os estudos transversais avaliam grupos de pessoas para identificar fatores de risco (exposição) e doenças, mas não são úteis para estabelecimento de relação causa e efeito. Os estudos de coorte avaliam indivíduos selecionados com base na sua exposição a um agente em estudo. Esses estudos prospectivos monitoram, em função do tempo, indivíduos inicialmente sadios para determinar a velocidade em que eles desenvolvem uma doença. Nos estudos caso-controle, os sujeitos são selecionados com base no *status* da doença: casos de indivíduos doentes e de correspondentes indivíduos sem a doença. As histórias de exposição dos dois grupos são comparadas para determinar as características-chave das exposições. Todos os estudos caso-controle são retrospectivos.

Resultados epidemiológicos são julgados pelos seguintes critérios: força de associação, consistência das observações (reprodutibilidade no tempo e no espaço), especificidade (singularidade na qualidade ou na quantidade da resposta), adequação de relação temporal (a exposição precede a resposta?), dose-responsividade, plausibilidade e coerência biológicas, verificação e analogia (extrapolação biológica). Além disso, os desenhos de estudos epidemiológicos devem ser avaliados pelo seu poder de detecção, adequação dos desfechos, verificação das avaliações da exposição, completa avaliação de fatores de perturbação e aplicabilidade geral dos resultados a outras populações sob risco. O poder de detecção é calculado usando o tamanho do estudo, a variabilidade, os limites de detecção aceitos para os dados e um determinado nível de significância.

Os avanços recentes do projeto genoma humano, a sofisticação dos biomarcadores moleculares e a melhoria das bases mecanísticas para as hipóteses epidemiológicas têm permitido aos

TABELA 4.2 Exemplo de três tipos de desenho de estudos epidemiológicos

	Tipo de estudo		
Atributos metodológicos	**Coorte**	**Caso-controle**	**Transversal**
Classificação inicial	Exposição – não exposição	Doença – ausência de doença	Qualquer um
Sequência temporal	Prospectivo	Retrospectivo	Atual
Composição da amostra	Indivíduos sadios	Casos e controles	Sobreviventes
Comparação	Proporção de indivíduos expostos com a doença	Proporção de casos com exposição	Qualquer um
Proporção	Incidência	Fração (percentual)	Prevalência
Índice de risco	Risco relativo – risco atribuído	Probabilidades relativas	Prevalência
Vantagens	Falta de tendência na exposição, fornece taxas de incidência e risco	Barato, pequeno número de indivíduos, resultados rápidos, adequado para doenças raras, sem desgaste	Resultados rápidos
Desvantagens	Necessário grande número de indivíduos, acompanhamento longo, desgaste, mudança dos métodos e critérios em função do tempo, custoso, inadequado para doenças raras	Informação incompleta, lembranças tendenciosas, problema na seleção dos controles e correspondentes, fornece somente risco relativo – não pode estabelecer causalidade, população de sobreviventes	Não pode estabelecer causalidade (consequência antecedente), população de sobreviventes, inadequado para doenças raras

epidemiologistas expandir o entendimento da plausibilidade biológica e da relevância clínica. A "epidemiologia molecular" com biomarcadores moleculares de exposição, de efeito e de suscetibilidade melhorados tem permitido aos pesquisadores relacionar de maneira mais eficiente eventos moleculares nas etapas causais da doença. O número de biomarcadores tem crescido e inclui identificação de polimorfismos de único nucleotídeo, perfil genômico, análise do transcriptoma e análises proteômicas.

AVALIAÇÃO DA RELAÇÃO DOSE-RESPOSTA

Integração dos aspectos quantitativos da avaliação do risco

Considerações quantitativas na avaliação do risco incluem avaliação dose-resposta, avaliação da exposição, variação na suscetibilidade e caracterização de incerteza.

A base fundamental das relações quantitativas entre exposição a um agente tóxico e a incidência de um efeito adverso é a avaliação dose-resposta. A análise das relações dose-resposta deve começar com a determinação dos efeitos críticos a serem avaliados quantitativamente. É prática comum escolher o conjunto de dados com efeitos adversos ocorrendo nos menores índices de exposição; o efeito adverso «crítico» é definido como o efeito biológico adverso significante que ocorre no menor nível de exposição.

Abordagens limítrofes A caracterização das relações dose-resposta limítrofes incluem a identificação do nível de menor efeito adverso observado ou do nível de ausência de efeito adverso observado (NOAELs ou LOAELs – do inglês *no or lowest observed adverse effect levels*). Na curva dose-resposta ilustrada na Figura 4.3, o limiar, indicado pela letra T, representa a dose abaixo

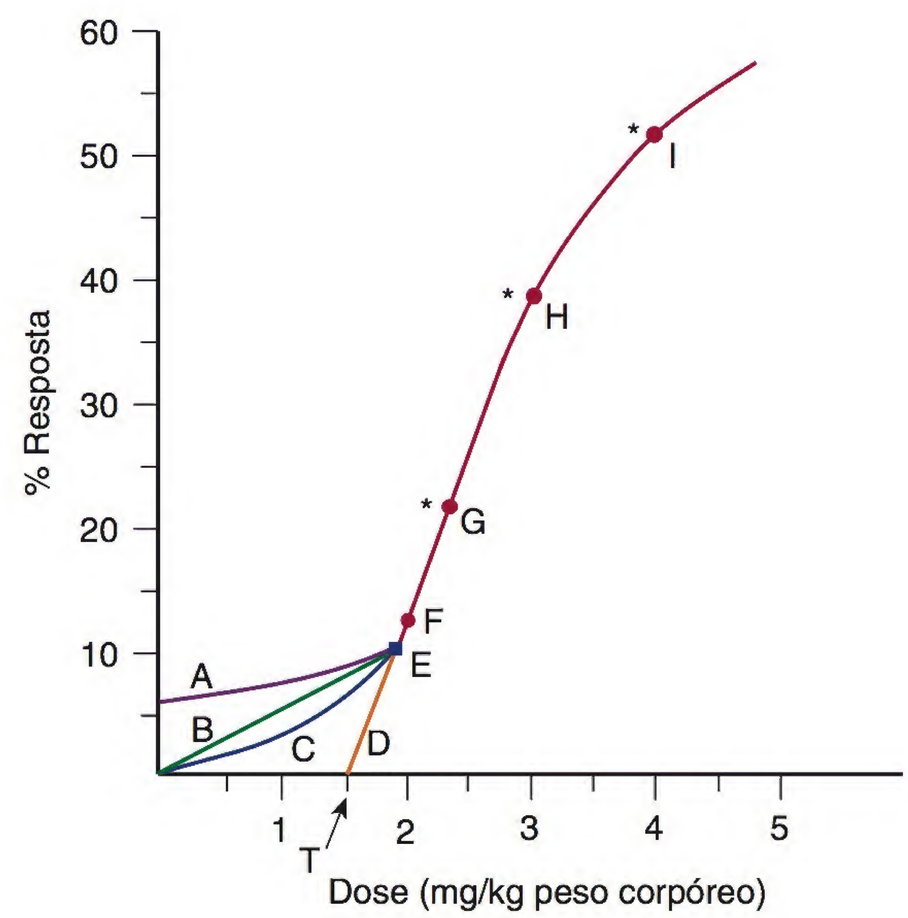


FIGURA 4.3 Curva dose-resposta. Esta figura é configurada para ilustrar uma curva dose-resposta típica com pontos de E a I indicando as respostas determinadas biologicamente. A significância estatística dessas respostas é indicada com o símbolo *. O limiar é mostrado pela letra T, uma dose abaixo da qual nenhuma mudança na resposta biológica ocorre. O ponto E representa o ponto de partida (POD – do inglês *point of departure*), ou seja, a dose próxima à parte inferior da curva dose-resposta, abaixo da qual é necessária extrapolação a doses menores. O ponto F é a maior resposta não estatisticamente significante, sendo, portanto, considerado o NOAEL (nível de ausência de efeito adverso observado) para este exemplo. O ponto G é o nível de menor efeito adverso observado (LOAEL) para este exemplo. As curvas A e D mostram algumas opções para extrapolar a relação dose-resposta abaixo da faixa de dados biologicamente observados, POD, ponto E.

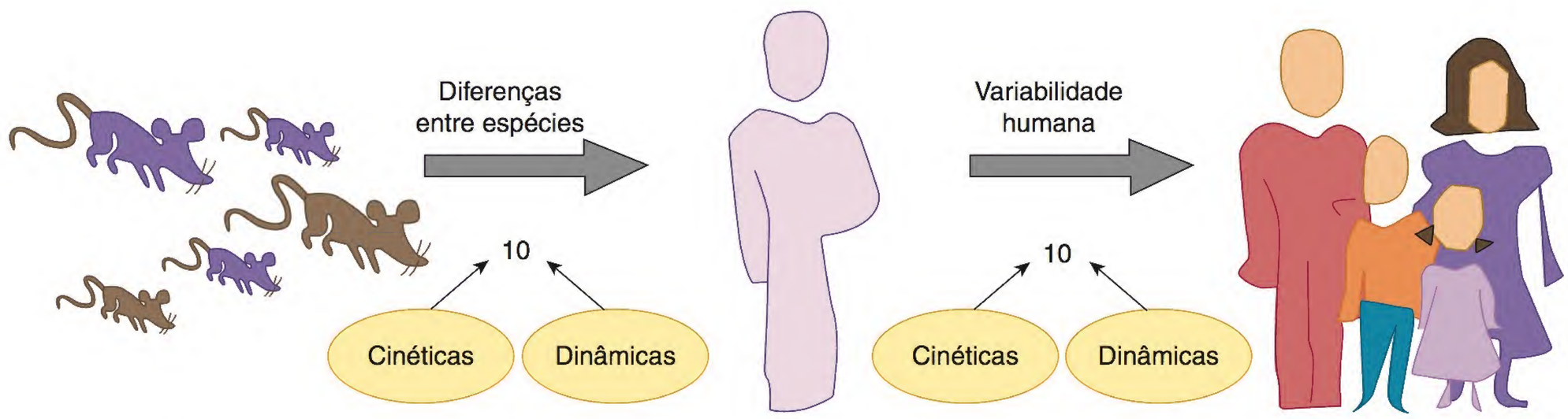


FIGURA 4.4 Considerações toxicocinéticas (TK) e toxicodinâmicas (TD) inerentes a extrapolações interespécies e interindivíduos. *A toxicocinética* refere-se ao processo de absorção, distribuição, eliminação e metabolismo de um toxicante. A *toxicodinâmica* refere-se às ações e às interações de um toxicante com o organismo e descreve processos em níveis molecular, celular, tecidual e dos órgãos. A figura mostra como a incerteza na extrapolação intra e interespécie pode ser considerada devido a dois fatores-chave: um componente cinético e um componente dinâmico.

da qual nenhum aumento adicional da resposta é observado. O NOAEL é identificado como a maior dose testada não estatisticamente significante; no exemplo, é o ponto F, 2 mg/kg de peso corpóreo. O ponto G é o LOAEL (2,5 mg/kg de peso corpóreo), que é a menor dose testada com um efeito estatisticamente significante.

Em geral, os bioensaios são desenhados com um número suficiente de animais para se obter uma resposta biológica na faixa de 10%. A *significância* normalmente se refere tanto a critérios biológicos quanto estatísticos, e é independente do número de níveis de dose testadas, do número de animais em cada dose e da incidência basal da resposta adversa nos grupos-controle não expostos. O NOAEL não deve ser interpretado como ausência do risco.

Como descrito no Capítulo 2, as abordagens para caracterizar relações dose-resposta incluem a identificação dos níveis de efeito como a DL_{50} (dose que induz 50% de letalidade), a CL_{50} (concentração que induz 50% de letalidade), a DE_{10} (dose que induz 10% da resposta), bem como NOAELs.

Os NOAELs têm servido normalmente como base para cálculos de avaliação do risco, tais como valores de doses de referência ou de ingestão diária aceitável (ADI – *acceptable daily intake*). Doses de referência (RfDs) ou concentrações de referência (RfCs) são estimadas de uma exposição diária a um agente que é considerada não induzir efeitos adversos à saúde na população humana. Os valores de ADI podem ser definidos como a quantidade de um composto ingerida diariamente durante toda a vida do indivíduo que, com base nos conhecimentos daquele momento, parece não induzir risco considerável. Valores de doses de referência e de ADI são, em geral, calculados pela divisão dos valores de NOAEL por fatores de incerteza (UF) e/ou por fatores modificadores (MF):

$$\text{RfD} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{UF} \times \text{MF}}$$

$$\text{ADI} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{UF} \times \text{MF}}$$

Ingestões diárias toleráveis (TDI) podem ser usadas para descrever as ingestões de um composto que não são "aceitáveis", mas "toleráveis", pois estão abaixo dos níveis conhecidos por causar efeitos adversos à saúde. Elas são calculadas de forma similar ao ADI. Em princípio, dividindo a NOAEL por esses fatores, inclui-se a variabilidade interespécie (animal para humano) e intraespécie (humano para humano) com um valor padrão de 10 cada uma. Fatores de incerteza adicionais podem ser usados para considerar, por exemplo, inadequações experimentais, para extrapolação de estudos de exposição de curta duração para uma situação mais relevante, como estudos crônicos, ou para considerar números inadequados de animais ou outras limitações experimentais. Se somente um valor de LOAEL esteja disponível, então um fator adicional de 10 vezes costuma ser usado para alcançar um valor mais comparável ao NOAEL. Tradicionalmente, um fator de segurança de 100 deveria ser usado para cálculos de RfD para extrapolar de um bioensaio animal bem conduzido (fator de 10 vezes de animal para humano) e para considerar a variabilidade humana à resposta (fator de 10 vezes de variabilidade humano para humano).

Fatores modificadores podem ser usados para ajustar o fator de incerteza se os dados de mecanismos, de farmacocinética ou de relevância da resposta animal para o risco humano justificarem tal modificação.

Esforços recentes têm focado no uso de fatores derivados de dados para substituir o UF de 10 vezes tradicionalmente usado para calcular RfDs e ADIs. Tais esforços têm incluído revisão da literatura sobre farmacologia humana obtida de ensaios clínicos publicados e desenvolvimento de bases de dados de variabilidade humana para uma faixa ampla de exposições e condições clínicas. Fatores de incerteza intra e interespécies têm dois componentes: os aspectos toxicocinético e toxicodinâmico. A Figura 4.4 mostra essas diferenças. Essa abordagem fornece uma estrutura para incorporar, dentro dos cálculos de dose de referência, informações científicas em aspectos específicos de todo o processo toxicológico; assim, dados relevantes podem substituir uma parte de toda a "incerteza" que envolve essas extrapolações.

A abordagem NOAEL tem sido criticada em diversos pontos, incluindo (1) o NOAEL deve, por definição, ser uma das doses experimentais testadas; e (2) uma vez identificada, o resto da curva dose-resposta é ignorado. Devido a essas limitações, uma alternativa à abordagem NOAEL, o método de dose padrão (BMD – *benchmark dose*), foi proposto. Nessa abordagem, a dose-resposta é modelada, e o menor limite de confiança para

uma dose em um nível de resposta específico (resposta padrão [BMR – *benchmark response*]) é calculado. A BMR é, geralmente, especificada em 1, 5 ou 10%. A BMD_x (com x representando a % BMR) é usada como uma alternativa ao valor de NOAEL para cálculos de dose de referência. Assim, a RfD seria:

$$RfD = \frac{BMD_x}{UF \times MF}$$

Os valores de UF e MF propostos, quando se empregam BMDs, podem variar desde os usados para o NOAEL até valores menores devido ao aumento de confiança no nível de resposta e no aumento do reconhecimento da variabilidade experimental em razão de se empregar uma menor ligação de confiança na dose.

As vantagens da abordagem BMD podem incluir (1) a possibilidade de levar em consideração toda a curva dose-resposta; (2) a inclusão da medida da variabilidade (limite de confiança); e (3) o uso de um nível de BMR consistente para os cálculos de RfD entre os estudos. Obviamente, limitações nos bioensaios em animais com respeito à avaliação a partir de um número mínimo de doses testadas, dose-respostas fracas e uso de desenhos de estudos com doses com grandes intervalos limitam a utilidade desses ensaios para qualquer tipo de avaliação quantitativa, sejam abordagens baseadas em NOAEL ou BMD.

Abordagens não limítrofes Como mostra a Figura 4.3, numerosas curvas dose-resposta podem ser propostas na região de baixas doses da curva dose-resposta se a suposição limítrofe não é feita. Como, em geral, o avaliador do risco precisa extrapolar além da região da curva dose-resposta para a qual os dados experimentais estão disponíveis, a escolha de modelos para gerar curvas nessa zona tem recebido muita atenção. Para respostas não limítrofes, métodos para avaliação dose-resposta têm utilizado também modelos de extrapolação para níveis do risco mínimos (10^{-4} a 10^{-6}) em doses muito baixas, bem abaixo da faixa de resposta observada biologicamente e bem abaixo dos níveis de efeito avaliados para respostas limítrofes. Existem dois tipos gerais de modelos dose-resposta: modelos estatísticos (ou modelos de distribuição probabilística) e modelos baseados em mecanismos.

Os modelos de distribuição probabilística são baseados na hipótese de que cada indivíduo tem um nível de tolerância para um agente teste e que esse nível de resposta é uma variável que segue uma função de distribuição de probabilidade específica. Essas respostas podem ser modeladas usando-se uma função dose-resposta cumulativa. Entretanto, a extrapolação dos dados experimentais de níveis de resposta de 50% para níveis de exposição "seguros", "aceitáveis" ou "mínimos" – por exemplo, risco de um em um milhão acima do basal – ilustra uma enorme lacuna entre observações científicas e limites do risco altamente protetores (algumas vezes, chamadas de *doses virtualmente seguras* ou aquelas correspondentes a um limite de confiança superior a 95% na proporção de respostas adversas).

Modelos derivados de hipóteses baseadas em mecanismos Essa abordagem utiliza uma equação matemática para descrever as relações dose-resposta que são consistentes com os mecanismos de resposta biológica propostos. Esses modelos têm como base a ideia de que uma resposta (efeito tóxico) em uma unidade biológica específica (animal ou humano) é o resultado da ocorrência aleatória de um ou mais eventos biológicos (eventos estocásticos).

Existe uma série de "modelos-foco" (*hit models*) para câncer, nos quais um foco é definido como um evento celular crítico que deve ocorrer antes que um efeito tóxico seja produzido. O modelo mecanístico mais simples é o modelo linear de um foco (um estágio), em que somente um foco ou uma interação celular crítica é necessária para que a célula seja alterada. Como as teorias sobre o câncer têm crescido em complexidade, modelos de carcinogênese com múltiplos focos têm sido desenvolvidos para descreverem eventos hipotéticos multifocos de alvo único, assim como eventos multifocos, multiacerto.

Aprimoramento toxicológico dos modelos Três áreas de pesquisa que têm levado a melhorias nos modelos usados na extrapolação do risco são o tempo para a informação do tumor, a modelagem toxicocinética baseada na fisiologia (descrita no Cap. 7) e modelos dose-resposta com base na biologia (*biologically based dose-response* – BBDR). O modelo BBDR visa fazer os modelos mecanísticos generalizados, discutidos na seção anterior, refletirem mais claramente processos biológicos específicos. Níveis medidos são incorporados às equações mecanísticas para substituir os valores padrão ou os valores gerados por computadores.

O desenvolvimento de modelos BBDR é limitado para outras aplicações além do câncer; entretanto, diversas abordagens têm sido exploradas em toxicidade de desenvolvimento, utilizando, como pontos críticos, cinética de ciclo celular, atividade enzimática, efeitos sobre a prole e citotoxicidade. Algumas abordagens têm sido propostas para avaliar o impacto sobre o desenvolvimento associando modelos de toxicocinética específicos da gestação com modelos toxicodinâmicos temporalmente sensíveis. Infelizmente, a falta de informação biológica quantitativa e específica para a maioria dos toxicantes e para muitos pontos críticos limita os estudos e a utilização desses modelos.

CARACTERIZAÇÃO DO RISCO

Variação na suscetibilidade

A toxicologia tem sido lenta em reconhecer as grandes variações entre os seres humanos. Em geral, resultados de ensaios e de modelos toxicocinéticos utilizam médias e desvios padrão para medir variação, ou mesmo erros padrão das médias, ignorando, assim, a variabilidade na resposta em função de idade, sexo, estado de saúde e genética.

Um desafio crucial para a avaliação do risco será interpretar e relacionar observações de métodos moleculares e baseados no genoma, altamente sensíveis, com todo o processo de toxicidade. Biomarcadores de efeitos precoces, como patologia clínica, surgem como uma função da exposição, da resposta e do tempo. Eventos prematuros, sutis e provavelmente reversíveis podem, em geral, ser diferenciados de estados patológicos irreversíveis.

O desafio para a interpretação de biomarcadores precoces e altamente sensíveis torna-se claro na análise de dados dos arranjos de expressão gênica. Como a nossa habilidade relativamente rotineira de monitorar respostas gênicas tem crescido muito na última década, a necessidade dos toxicologistas de interpretar tais observações para a avaliação do risco e para o processo de toxicidade tem aumentado com igual ou maior intensidade.

A análise de microarranjo (*microarray*) para avaliação do risco necessita de verificações sofisticadas para se chegar a uma ligação e interpretação funcional com um ponto toxicológico convencional. Devido ao grande número de respostas medidas com arranjos de expressão gênica, técnicas padronizadas de análise estão sendo usadas. As grandes quantidades de bases de dados sobre as classes químicas, as condições patológicas e os estágios de progressão de doenças, as quais são essenciais para essas análises, estão sendo desenvolvidas.

AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO

Os principais objetivos da avaliação da exposição são determinar a fonte, o tipo, a magnitude e a duração do contato com o agente químico de interesse. Obviamente, o perigo, um elemento-chave do processo de avaliação do risco, não ocorre na ausência da exposição. Entretanto, os dados de exposição são, com frequência, identificados como a principal área de incerteza de toda a determinação do risco. O primeiro objetivo de uso de informações quantitativas de exposição não é apenas determinar o tipo e a quantidade da exposição, mas, também, descobrir especificamente quanto do agente em questão pode ter alcançado os tecidos-alvo. Um passo importante na avaliação da exposição é determinar quais vias de exposição são relevantes para o cenário de risco sob investigação. A seguir, quantifica-se cada via identificada como exposição potencialmente relevante, para, então, resumir essas vias para o cálculo da exposição total.

Considerações adicionais para avaliação da exposição incluem como o tempo e a duração das exposições devem ser considerados na avaliação do risco. Em geral, estimativas para o risco de câncer usam médias em função do tempo de vida. Em alguns casos, limites de exposição de curto prazo (STELs – *short-term exposure limits*) são exigidos, bem como a caracterização de nível de exposição de altas concentrações em curto tempo. Nesses casos, as exposições não são medidas em função do tempo de vida, e os efeitos de doses altas e de curta duração são estimados. Com relação à toxicidade de desenvolvimento, uma única exposição pode ser suficiente para produzir um efeito adverso; assim, doses diárias, em vez de valores ponderados sobre toda a vida do indivíduo, são empregadas nos estudos.

FONTES DE INFORMAÇÃO

A Rede de Informações Toxicológicas (Toxicology Data Network) (TOXNET) da Biblioteca National de Medicina dos Estados Unidos (National Library of Medicine – http://sis.nlm.nih.gov/) fornece acesso a bases de dados em toxicologia, substâncias químicas perigosas e áreas relacionadas. Essas fontes de informação variam quanto ao nível de avaliação incluído, desde listagem de referências científicas sem comentários a informações extensas revisadas por especialistas sobre avaliação do risco.

A Organização Mundial da Saúde (http://www.who.int/) fornece informações específicas de substâncias químicas por meio de documentos criteriosos do Programa Internacional de Segurança Química (http://www.who.int/pcs/IPCS/index.htm) e documentos sobre saúde e segurança. A Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (IARC) fornece dados de classes específicas de substâncias cancerígenas, bem como substâncias individuais. O Programa Nacional de Toxicologia do Instituto Nacional Ciências de Saúde Ambiental (NIEHS) publica relatórios técnicos sobre compostos avaliados como parte desse programa nacional (http://ehis.niehs.nih.gov/roc/toc9.html).

PERCEPÇÃO DO RISCO E ANÁLISES COMPARATIVAS DO RISCO

Os indivíduos respondem de maneira muito diferente às informações sobre situações e produtos perigosos, assim como o fazem comunidades e a sociedade como um todo. O entendimento dessas respostas comportamentais é crucial na construção do processo de comunicação do risco e na avaliação das opções de gerenciamento do risco. Em um estudo clássico, solicitou-se a estudantes, membros da Liga de Mulheres Eleitoras, membros ativos de clubes e cientistas que classificassem 30 atividades ou agentes em ordem de sua contribuição anual para mortes. Os membros dos clubes classificaram praguicidas, latas de *spray* e energia nuclear como mais seguros em relação a outras pessoas leigas. Para os estudantes, anticoncepcionais e conservantes alimentícios eram mais arriscados, e escalar uma montanha, para esses estudantes era uma atividade mais segura do que para outros indivíduos. Os cientistas classificaram energia elétrica, cirurgia, natação e raios X como os mais arriscados, e energia nuclear e trabalho policial como menos arriscados em relação às outras pessoas leigas. Dependendo do seu trabalho, na indústria, em universidades ou no governo, existem, também, diferenças entre grupos de toxicologistas na percepção do risco de substâncias químicas.

Fatores psicológicos como o pavor, o sentimento de incontrolabilidade e a exposição involuntária interagem com fatores que representam o quanto um perigo é familiar, observável e "essencial" no dia-a-dia. A Figura 4.5 apresenta um esquema para um grande número de atividades arriscadas, utilizando controlável/incontrolável e observável/não observável como parâmetros; variáveis altamente correlacionadas são descritas nos círculos menores para cada um dos dois fatores principais pareados.

As exigências do público para as autoridades regulatórias são concentradas com frequência em exposições involuntárias (especialmente no fornecimento de alimentos, água potável e ar) e perigos não familiares, como lixo radioativo, campos eletromagnéticos, isolamentos com amianto e alimentos e plantas geneticamente modificados. Muitas pessoas reagem de maneira negativa quando percebem que informações sobre perigos, ou mesmo sobre novas tecnologias sem perigos relatados, são retidas pelos fabricantes (alimentos geneticamente modificados) ou pelas agências do governo (transfusões de sangue contaminado com HIV na década de 1980; quantidade de lixo contendo substâncias químicas perigosas ou radioativas).

Muitas pessoas, normalmente, comparam riscos de atividades alternativas – no trabalho, na escolha do lazer, nas interações interpessoais e em seus investimentos. Determinar qual a melhor forma de se conduzirem análises do risco comparativo provou ser difícil devido à grande variedade de benefícios à saúde, ao meio ambiente, às enormes incertezas das estimativas financeiras dos custos/benefícios e às distribuições diferentes dos benefícios e dos custos entre a população.

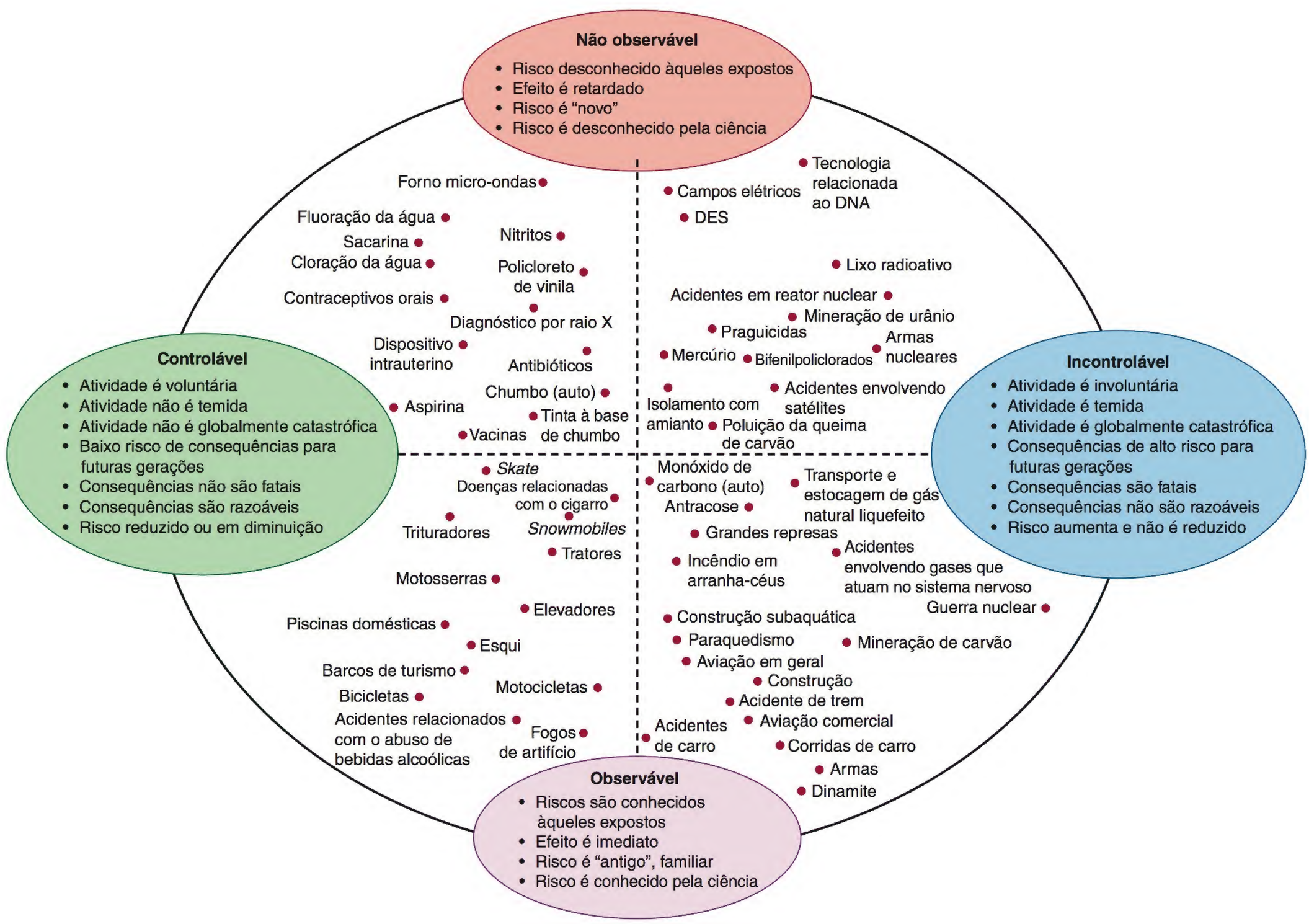


FIGURA 4.5 Percepções do risco ilustradas usando um diagrama de eixos "risco espaço". O risco espaço tem eixos que correspondem grosseiramente à percepção do perigo e ao grau com que ele é familiar ou observável. Os riscos no quadrante superior desse espaço são os que mais provocam chamadas às autoridades governamentais.

RESUMO

Os objetivos da avaliação do risco variam com os temas, com as necessidades de gerenciamento do risco e com os requerimentos legais. Entretanto, os esquemas do National Research Council and Risk Commission são suficientemente flexíveis para atender a esses vários objetivos, acomodar novos conhecimentos e fornecer um guia para a configuração de prioridades na indústria, em organizações ambientais e em agências regulatórias do governo e de saúde pública. Toxicologia, epidemiologia, avaliação da exposição e observações clínicas podem ser relacionadas com biomarcadores, investigações interespécies de mecanismos de efeito e abordagens sistemáticas da avaliação, da comunicação e do gerenciamento do risco. Os avanços da toxicologia certamente ajudam a melhorar a qualidade da avaliação do risco para um grande número de fenômenos relacionados à saúde conforme as descobertas científicas substituem suposições e ajudam a descrever e modelar a incerteza com maior credibilidade.

REFERÊNCIAS

Cote ML: Study designs in genetic epidemiology. *Methods Mol Biol 520:247-257, 2009.*

EPA: *Guidelines for Carcinogen Risk Assessment* (*Cancer Guidelines*). A Federal Register Notice, 2005. http://cfpub.epa.gov/ncea/raf/recordisplay.cfm? deid=116283.

Hsieh A: A nation's genes for a cure to cancer: evolving ethical, social and legal issues regarding population genetic databases. *Columbia J Law Soc Probl* 37:259-411, 2004.

Maines MD, Costa, LG, Reed DJ, et al (eds): *Current Protocols in Toxicology.* New York: Wiley, 2000.

NRC: *Scientific Frontiers in Developmental Toxicology and Risk Assessment.* Washington, DC: National Research Council, 2000.

Ricci PF: *Environmental and Health Risk Assessment and Management: Principles and Practices.* Dordrecht: Springer, 2006.

Robson M, Toscano W: *Risk Assessment for Environmental Health.* San Francisco: Jossey-Bass, 2007.

Slovic P, Peters E, Finucane ML, Macgregor DG: Affect, risk, and decision making. *Health Psychol* 24:S35-S40, 2005.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes opções NÃO é importante para identificação do risco?
   a. Análise estrutura-atividade
   b. Ensaios *in vitro*
   c. Bioensaios com animais
   d. Suscetibilidade
   e. Epidemiologia

2. A probabilidade de um evento adverso é definida como:
   a. Perigo
   b. Taxa de exposição
   c. Risco
   d. Suscetibilidade
   e. Epidemiologia

3. A caracterização científica sistemática de efeitos adversos à saúde resultante da exposição humana a agentes perigosos é a definição de:
   a. Risco
   b. Controle de perigo
   c. Avaliação do risco
   d. Comunicação do risco
   e. Estimativa do risco

4. Qual das seguintes opções não é um objetivo do gerenciamento do risco?
   a. Definir níveis para o risco.
   b. Balancear riscos e benefícios.
   c. Calcular doses letais.
   d. Determinar prioridades para os fabricantes.
   e. Estimar riscos residuais.

5. Qual das seguintes opções NÃO é uma característica no desenho de bioensaios padronizados para câncer?
   a. Mais do que uma espécie
   b. Ambos os sexos
   c. Exposição próxima do tempo de vida
   d. Aproximadamente 50 animais por grupo de dose
   e. Mesmo nível de dose para todos os grupos

6. Qual dos seguintes tipos de estudo epidemiológico é sempre retrospectivo?
   a. Coorte
   b. Transversal
   c. Caso-controle
   d. Longitudinal
   e. Exploratório

7. Qual das seguintes opções é definida como a maior dose avaliada não estatisticamente significante?
   a. ED_{50}
   b. ED_{100}
   c. NOAEL
   d. ADI
   e. COAEL

8. Qual das seguintes opções representa a dose abaixo da qual nenhum aumento adicional na resposta é observado?
   a. ED_{10}
   b. LD_{10}
   c. RfC
   d. Limiar
   e. Nível de significância

9. Qual das seguintes opções NÃO é necessária para calcular a dose de referência usando o método BMD?
   a. MF
   b. Resposta percentual padrão
   c. NOAEL
   d. UF
   e. Dose padrão

10. Doses virtualmente seguras são descritas em qual nível de confiança?
   a. 90%
   b. 95%
   c. 99%
   d. 99,9%
   e. 99,99%

UNIDADE II DISPOSIÇÃO DE TOXICANTES

CAPÍTULO 5

Absorção, Distribuição e Excreção de Toxicantes

Lois D. Lehman-McKeeman

INTRODUÇÃO

MEMBRANAS CELULARES

Transporte passivo
- Difusão simples
- Filtração

Transporte especial
- Transporte ativo
- Transportadores de xenobióticos
- Difusão facilitada
- Processos adicionais de transporte

ABSORÇÃO

Absorção de toxicantes pelo sistema digestório

Absorção de toxicantes pelos pulmões
- Gases e vapores
- Aerossóis e partículas

Absorção de toxicantes através da pele

Absorção de toxicantes após vias especiais de administração

DISTRIBUIÇÃO

Volume de distribuição

Armazenamento de toxicantes em tecidos
- Proteínas plasmáticas como compartimentos de armazenamento
- Fígado e rins como compartimentos de armazenamento
- Tecido adiposo como compartimento de armazenamento
- Ossos como compartimentos de armazenamento

Barreira hematencefálica

Passagem de toxicantes através da placenta

Redistribuição de toxicantes

EXCREÇÃO

Excreção urinária

Excreção fecal
- Produtos não absorvidos
- Excreção biliar
- Excreção intestinal
- Parede e flora intestinais

Excreção via ar exalado

Outras rotas de eliminação
- Fluido cerebrospinal
- Leite
- Suor e saliva

CONCLUSÃO

PONTOS-CHAVE

- Absorção é a transferência de uma substância química do local de exposição, normalmente uma superfície interna ou externa do corpo, para a circulação sanguínea.
- Toxicantes são removidos da circulação sanguínea por biotransformação, excreção e armazenamento em vários locais do organismo.
- Excreção é a remoção de xenobióticos do sangue e seu retorno para o ambiente externo via urina, fezes ou ar expirado.

INTRODUÇÃO

A disposição de uma substância química ou xenobiótico é definida como as ações que compõem sua absorção, distribuição, biotransformação e eliminação. A caracterização quantitativa da disposição dos xenobióticos é denominada farmacocinética ou toxicocinética (ver Cap. 7).

A toxicidade de uma substância depende da dose. A concentração de uma substância química em seu local de ação é, em geral, proporcional à dose, mas a mesma dose de dois ou mais produtos químicos pode levar a concentrações amplamente diferentes na disposição dos toxicantes. Vários fatores que afetam a disposição são apresentados na Figura 5.1. Por exemplo, (1) se a fração absorvida ou a taxa de absorção for baixa, um toxicante pode nunca atingir concentrações altas o suficiente para produzir toxicidade em um potencial local de ação; (2) a distribuição de um toxicante pode ser tal que ele se concentre em um tecido que não é seu órgão-alvo, diminuindo, dessa forma, sua toxicidade; (3) a biotransformação de um agente químico pode resultar na formação de metabólitos mais ou menos tóxicos que o composto de origem, a uma taxa mais rápida ou mais lenta, com consequências óbvias para a concentração no órgão-alvo e, con-

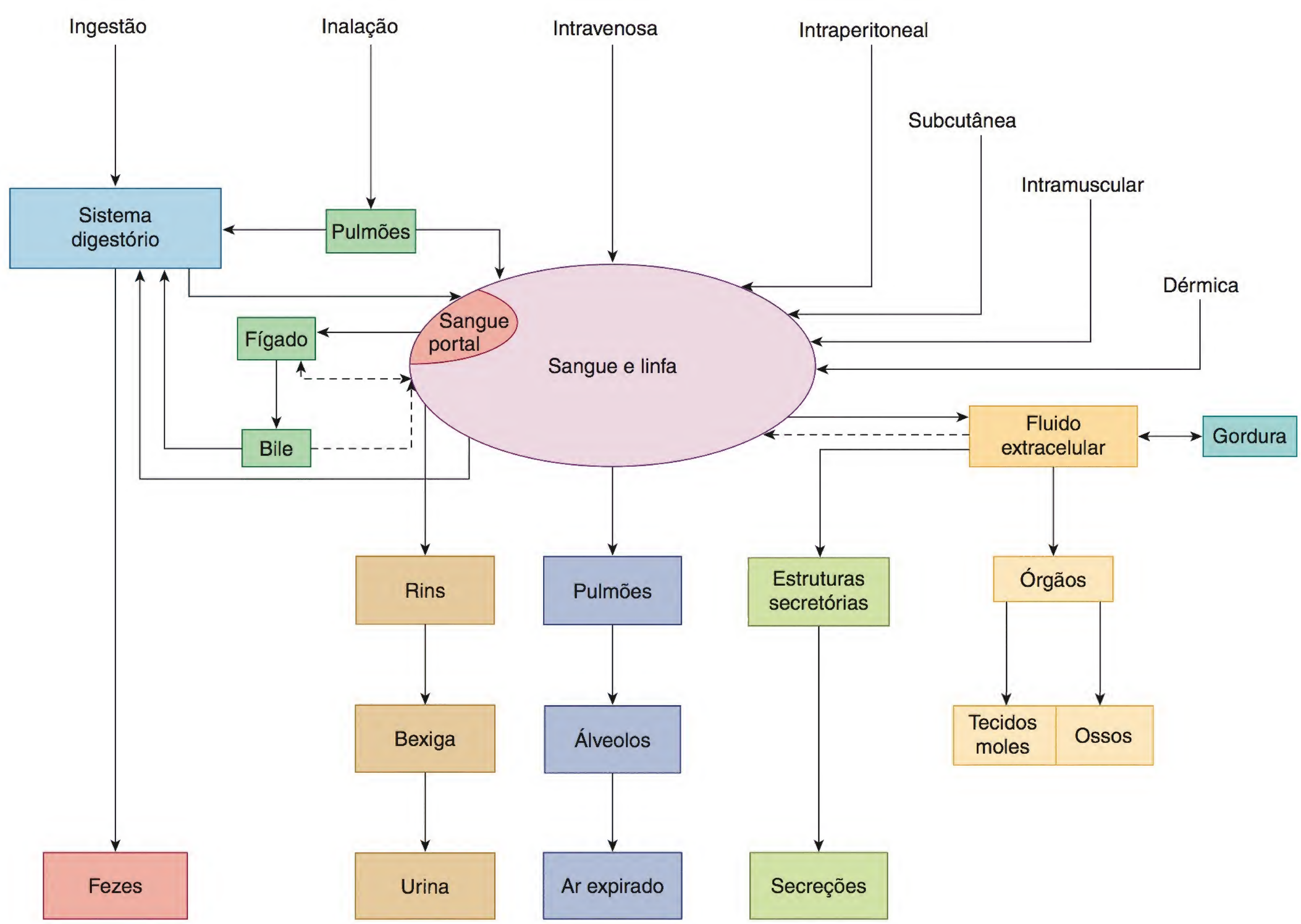


FIGURA 5.1 Rotas de absorção, distribuição e excreção de toxicantes no organismo.

sequentemente, para a toxicidade também. Se um toxicante é distribuído e armazenado na gordura, sua eliminação provavelmente será lenta, pois níveis muitos baixos no plasma impedem que o *clearance* renal ou outros *clearances* ocorram de forma rápida.

A pele, os pulmões e o sistema digestório (canal alimentar) são as principais barreiras que separam os organismos superiores de um ambiente que contém um amplo número de toxicantes. Exceções são agentes cáusticos e corrosivos (ácidos, bases, sais e oxidantes) que atuam topicamente. Um toxicante absorvido para a corrente sanguínea por qualquer uma dessas três barreiras é distribuído para o organismo, incluindo o local onde produz dano, o *órgão-alvo* ou *tecido-alvo*. Um toxicante pode ter um ou mais órgãos-alvo. Como diversos fatores além da concentração influenciam a suscetibilidade dos órgãos a toxicantes, o órgão ou tecido com a maior concentração de um toxicante não é necessariamente o local da toxicidade.

MEMBRANAS CELULARES

Toxicantes normalmente atravessam as membranas de diversas células, como o epitélio estratificado da pele, a fina camada de células dos pulmões ou do sistema digestório, o endotélio capilar e células do tecido ou órgão-alvo. As proteínas estão inseridas na dupla camada, e algumas atravessam essas camadas, permitindo a formação de poros aquosos. O toxicante pode atravessar a membrana por: (1) transporte passivo, no qual a célula não gasta energia; ou (2) transporte especializado, no qual a célula fornece energia para transportar o toxicante através da membrana.

Transporte passivo

Difusão simples A maior parte dos toxicantes atravessa a membrana por difusão simples. Pequenas moléculas hidrofílicas (peso molecular de até, aproximadamente, 600) atravessam membranas através dos poros aquosos, em um processo chamado *difusão paracelular*, enquanto as moléculas hidrofóbicas se difundem através da porção lipídica das membranas. A maior parte dos toxicantes são moléculas orgânicas grandes e de diferentes lipossolubilidades. Sua taxa de transporte através das membranas está correlacionada com sua lipossolubilidade. O logaritmo do coeficiente de partição octanol/água é um parâmetro fisico-químico relacionado ao seu potencial para atravessar as membranas, com valores positivos associados a uma maior lipossolubilidade.

A forma ionizada de ácidos ou bases orgânicas fracas, em geral, tem baixa lipossolubilidade e não atravessa prontamente a porção lipídica das membranas. Em contraste, a forma não ionizada é mais lipossolúvel e difunde-se através das membranas a uma taxa que é proporcional a sua lipossolubilidade. O pH ao qual uma base ou um ácido orgânico fraco é 50% ionizado é chamado de pK_a ou pK_b. Como o pH, tanto o pK_a quanto o pK_b são definidos como o logaritmo negativo da constante de ionização de uma base ou um ácido orgânico fraco. Com a equação $pK_a = 14 - pK_b$, pK_a pode, também, ser calculado para bases orgânicas fracas. Um ácido orgânico com um pK_a baixo é um ácido relativamente forte, enquanto um com um pK_a alto é um ácido fraco. O oposto é verdadeiro para bases. O conhecimento da estrutura química é necessário para distinguir entre ácidos e bases orgânicas, uma vez que o valor numérico do pK_a não indica essa característica.

O grau de ionização de uma substância química depende do seu pK_a e do pH da solução. A relação entre o pK_a e o pH é descrito pelas equações de Henderson-Hasselbach:

$$\text{Para ácidos: } pK_a - pH = \log \frac{[\text{não ionizado}]}{[\text{ionizado}]}$$

$$\text{Para bases: } pK_a - pH = \log \frac{[\text{ionizado}]}{[\text{não ionizado}]}$$

Filtração Quando a água flui através de uma membrana porosa, qualquer soluto pequeno o bastante para passar através dos poros flui com ela. A passagem através desses poros é chamada de *filtração*. Uma das principais diferenças entre as diversas membranas é o tamanho dos poros. Nos glomérulos renais, um local importante de filtração, esses poros permitem a passagem de moléculas menores do que albumina (aproximadamente 60 kDa). Os canais, na maior parte das células, são bem menores, permitindo a passagem de moléculas com pesos moleculares não superiores a algumas centenas de dáltons.

Transporte especial

Transporte ativo O transporte ativo é caracterizado por: (1) movimento de agentes químicos contra gradientes de concentração ou eletroquímicos; (2) saturabilidade a altas concentrações de substratos, apresentando, dessa forma, capacidade máxima de transporte (T_m); (3) seletividade para alguns aspectos estruturais de agentes químicos; (4) inibição quantitativa por antagonistas químicos ou compostos que são carreados pelo mesmo transportador; e (5) necessidade de gasto de energia, de modo que inibidores metabólicos bloqueiem o processo de transporte.

Transportadores de xenobióticos Cerca de 5% de todos os genes humanos estão relacionados a transportadores, indicando a importância da função do transporte em processos biológicos usuais e toxicológicos. Transportadores de xenobióticos podem ser divididos em duas categorias: (1) ativos, transportadores dependentes de energia da grande superfamília conhecida como transportadores *ATP-binding cassette* (ABC); e (2) *solute carriers* (SLCs), que predominantemente atuam por meio de difusão facilitada (Tab. 5.1).

Tanto as proteínas resistentes a múltiplas drogas (mdr; *multidrug resistan*)/glicoproteínas-p como as proteínas multirresistentes a drogas (mrp; *multiresistant drug proteins*) expulsam agentes químicos para fora das células; no entanto, produtos de metabolismo de reações de fase II (conjugados com glicuronídeos e glutationa) parecem ser seus substratos preferidos. O nome *família de peptídeos transportadores de ânions orgânicos* (oatp; *organic-anion transporting peptide*) é uma designação inadequada, pois esta família de transportadores transporta não apenas ácidos, mas também bases e compostos neutros, e é importante para a captação hepática de xenobióticos. Em contraste, a família transportadora de ânions orgânicos (oat; *organic-anion transporting*) é especialmente importante na captação renal de ânions, enquanto

TABELA 5.1 Principais transportadores envolvidos na disposição de xenobióticos

Abreviaturas	Nome	Função
Transportadores ativos (família ABC)		
mdr1/P-gp	Proteínas resistentes a múltiplas drogas / Glicoproteína-p	Efluxo do intestino, pulmões e placenta; secreção biliar
bsep	Bomba exportadora de sais biliares	Transporte de sais biliares
mrp	Proteínas multirresistentes a drogas	Resistência a múltiplos fármacos em diversos tecidos, efluxo de ânions orgânicos, conjugados glicuronídeos e glutationas e transporte de nucleosídeos
BCRP	Proteínas de resistência a câncer de mama	Efluxo de ânions orgânicos, principalmente sulfatos conjugados
Transportadores facilitados (família SLC)		
oatp	Polipeptídeo transportador de ânion orgânico	Transporte de ânions orgânicos, cátions e compostos neutros (Na^+ independente)
oat	Transportador de ânions orgânicos	Transporte de ânions orgânicos, predominantemente nos rins
oct	Transportador de cátions orgânicos	Transporte de cátions orgânicos, predominantemente nos rins e no fígado
pept	Transportador de peptídeos	Transporte de di e tripeptídeos e alguns xenobióticos

a família do transportador cátion-orgânico (oct; *organic-cation transporting*) é importante tanto para a captação renal quanto hepática de xenobióticos. A família transportadora de nucleotídeos (nt; *nucleotide transporter*), o transportador de íons metálicos-divalentes (dmt; *divalent-metal ion transporter*) e o transportador de peptídeos (pept; *peptide transporter*) auxiliam na absorção gastrintestinal de nucleotídeos, metais e di e tripeptídeos.

Difusão facilitada A difusão facilitada é um transporte mediado por carreador que exibe as propriedades do transporte ativo, exceto pelo fato de o substrato não ser movido contra um gradiente eletroquímico ou de concentração e o processo não exigir energia. Como observado anteriormente, octs, que atuam na captação de cátions orgânicos no fígado e nos rins, medeiam o movimento por difusão facilitada.

Processos adicionais de transporte Outras formas de transporte especializado, incluindo fagocitose e pinocitose, são mecanismos propostos pelos quais as membranas celulares envolvem e engolfam partículas.

ABSORÇÃO

O processo pelo qual os toxicantes atravessam as membranas corporais e ingressam na corrente sanguínea é denominado absorção. Os principais locais de absorção são o sistema digestório, os pulmões e a pele. A administração enteral inclui todas as rotas que pertencem ao canal alimentar (sublingual, oral e retal), enquanto a administração parenteral envolve todas as outras rotas (intravenosa, intraperitoneal, intramuscular, subcutânea, etc.).

Absorção de toxicantes pelo sistema digestório

O sistema digestório (SD) é um dos locais mais importantes para absorção de toxicantes. Muitos toxicantes ambientais ingressam na cadeia alimentar e são absorvidos com os alimentos a partir do SD.

O SD pode ser percebido como um tubo através do corpo. Apesar de estar no interior do corpo, os conteúdos do SD podem ser considerados externos ao organismo. A menos que um agente nocivo tenha propriedades cáusticas ou irritantes, toxicantes no SD não costumam produzir danos sistêmicos a um indivíduo até serem absorvidos.

A absorção de toxicantes pode ocorrer ao longo de todo o SD, mesmo na boca e no reto. Se um toxicante é uma base ou um ácido orgânico, ele tende a ser absorvido por difusão simples na parte do SD na qual ele está presente na forma mais lipossolúvel (não ionizada). Fatores como a lei da ação das massas, área superficial e perfusão sanguínea também influenciam a absorção de bases ou ácidos orgânicos fracos.

O SD de mamíferos tem um sistema de transporte especializado (mediado por carreadores) para a absorção de nutrientes e eletrólitos (Tab. 5.2). O SD também tem, pelo menos, um sistema de transporte ativo que reduz a absorção de xenobióticos. As mdr (também chamadas de glicoproteínas-p) localizam-se nos enterócitos. Quando as substâncias químicas que são substratos para mdr ingressam no enterócito, elas são exsudadas de volta ao lúmen intestinal.

O número de toxicantes ativamente absorvidos pelo SD é baixo; a maior parte ingressa no organismo por difusão simples. Substâncias lipossolúveis são absorvidas por esse processo mais rápida e amplamente do que substâncias hidrossolúveis.

TABELA 5.2 Locais de distribuição de sistemas de transporte especializado no intestino de homens e animais

	Localização da capacidade absortiva no intestino delgado			
Substratos	**Superior**	**Mediana**	**Inferior**	**Cólon**
Açúcar (glicose, galactose, etc.)	++	+++	++	0
Aminoácidos neutros	++	+++	++	0
Aminoácidos básicos	++	++	++	?
Gamaglobulina (animais recém-nascidos)	+	++	+++	?
Pirimidinas (timina e uracila)	+	+	?	?
Triglicerídeos	++	++	+	?
Absorção de ácidos graxos e conversão a triglicerídeos	+++	++	+	0
Sais biliares	0	+	+++	
Vitamina B_{12}	0	+	+++	0
Na^+	+++	++	+++	+++
H^+ (e/ou secreção de HCO_3^-)	0	+	++	++
Ca^{2+}	+++	++	+	?
Fe^{2+}	+++	++	+	?
Cl^-	+++	++	+	0

Material particulado também pode ser absorvido pelo epitélio GI. Nesse caso, o tamanho da partícula determina a taxa de absorção, e as características de lipossolubilidade e ionização são menos importantes. O tamanho da partícula é inversamente relacionado à taxa de absorção.

A resistência ou falta de resistência de substâncias químicas à alteração pelo pH ácido do estômago, pelas enzimas do estômago ou intestino ou pela flora intestinal é de extrema importância. A difusão simples é proporcional não apenas à área superficial dos vilos e microvilos e à permeabilidade, mas também ao tempo de permanência em diversos segmentos do canal alimentar. Desse modo, a taxa de absorção de um toxicante que permanece por maiores períodos no intestino aumenta, enquanto daquele que permanece menos tempo, diminui. O tempo de permanência de uma substância química no intestino depende da motilidade intestinal.

Experimentos demonstraram que a toxicidade oral de algumas substâncias químicas é aumentada pela diluição da dose. Esse fenômeno pode ser explicado pelo fato de o volume aumentado induzir que o esvaziamento gástrico ocorra mais rapidamente, o qual, por sua vez, leva a uma absorção mais rápida no duodeno em razão da maior área superficial nesse local.

A absorção de um toxicante do SD também depende das propriedades físicas do composto, como lipossolubilidade e taxa de dissolução. Um aumento na lipossolubilidade, em geral, aumenta a absorção de substâncias químicas, e a taxa de dissolução é inversamente proporcional ao tamanho da partícula.

A quantidade de uma substância química que ingressa na circulação sanguínea após administração oral depende da quantidade absorvida pelas células gastrintestinais, biotransformação pelas células gastrintestinais e extração pelo fígado para a bile. Transportadores podem influenciar essa quantidade ao afetarem a captação ou o efluxo das células. Esse fenômeno de remoção das substâncias químicas antes de ingressarem na circulação sanguínea é chamado de *eliminação pré-sistêmica*, ou *efeito de primeira passagem*.

Diferenças de absorção entre espécies podem ocorrer devido a diferenças na capacidade absortiva entre animais, pois a absorção, algumas vezes, depende de biotransformação prévia por bactérias gastrintestinais. Considerações anatômicas como a área superficial relativa ao SD, diferenças na flora gastrintestinal e no pH podem ajudar a explicar a variabilidade interespécie.

Absorção de toxicantes pelos pulmões

Toxicantes absorvidos pelos pulmões geralmente são gases, vapores de líquidos voláteis ou volatilizáveis e aerossóis.

Gases e vapores A absorção de gases inalados ocorre principalmente pelos pulmões. Entretanto, antes que um gás atinja os pulmões, ele deve passar pelo nariz, com suas conchas nasais, as quais aumentam a área de superfície. Como a mucosa nasal é recoberta por um filme de fluido, moléculas gasosas podem ficar retidas no nariz e não atingir os pulmões se forem muito hidrossolúveis ou reagirem com componentes da superfície celular. Desse modo, o nariz atua como um "depurador" para gases hidrossolúveis e gases altamente reativos.

Quando um gás é inalado pelos pulmões, moléculas de gás difundem-se do espaço alveolar para o sangue e, então, dissolvem-se até que as moléculas de gás no sangue estejam em equilíbrio com as moléculas de gás no espaço alveolar. Em equilíbrio, a razão da concentração de uma substância química no sangue e na fase gasosa é constante. Essa razão de solubilidade é chamada de *coeficiente de partição sangue:gás*. Essa constante é única para cada gás. Quando o equilíbrio é atingido, a taxa de transferência de moléculas de gás do espaço alveolar para o sangue equivale à taxa de remoção pelo sangue do espaço alveolar.

A taxa de absorção de gases nos pulmões é variável e depende da taxa de solubilidade do toxicante (concentração no sangue/concentração na fase gasosa antes ou na saturação) em equilíbrio. Para gases com uma taxa de solubilidade muito baixa, a taxa de transferência depende sobretudo do fluxo sanguíneo através dos pulmões (limitado pela perfusão), ao passo que para gases com uma alta taxa de solubilidade, ela é fundamentalmente uma função da taxa e da profundidade da respiração (limitada pela ventilação).

O sangue transporta moléculas de gás para o restante do organismo. Em cada tecido, moléculas de gás são transferidas do sangue para o tecido até que o equilíbrio seja atingido. Após liberar parte do gás para os tecidos, o sangue retorna aos pulmões para receber mais gás. O processo continua até que o gás atinja o equilíbrio entre o sangue e cada tecido. Nesse momento, não ocorre aumento na absorção de gás e sua concentração permanece constante, pois um estado de equilíbrio foi alcançado. Obviamente, se ocorrer biotransformação e excreção, a absorção alveolar continuará até se estabelecer o estado de equilíbrio correspondente. Os pulmões podem, também, contribuir potencialmente para a biotransformação ou a eliminação de toxicantes antes de sua entrada na circulação sanguínea.

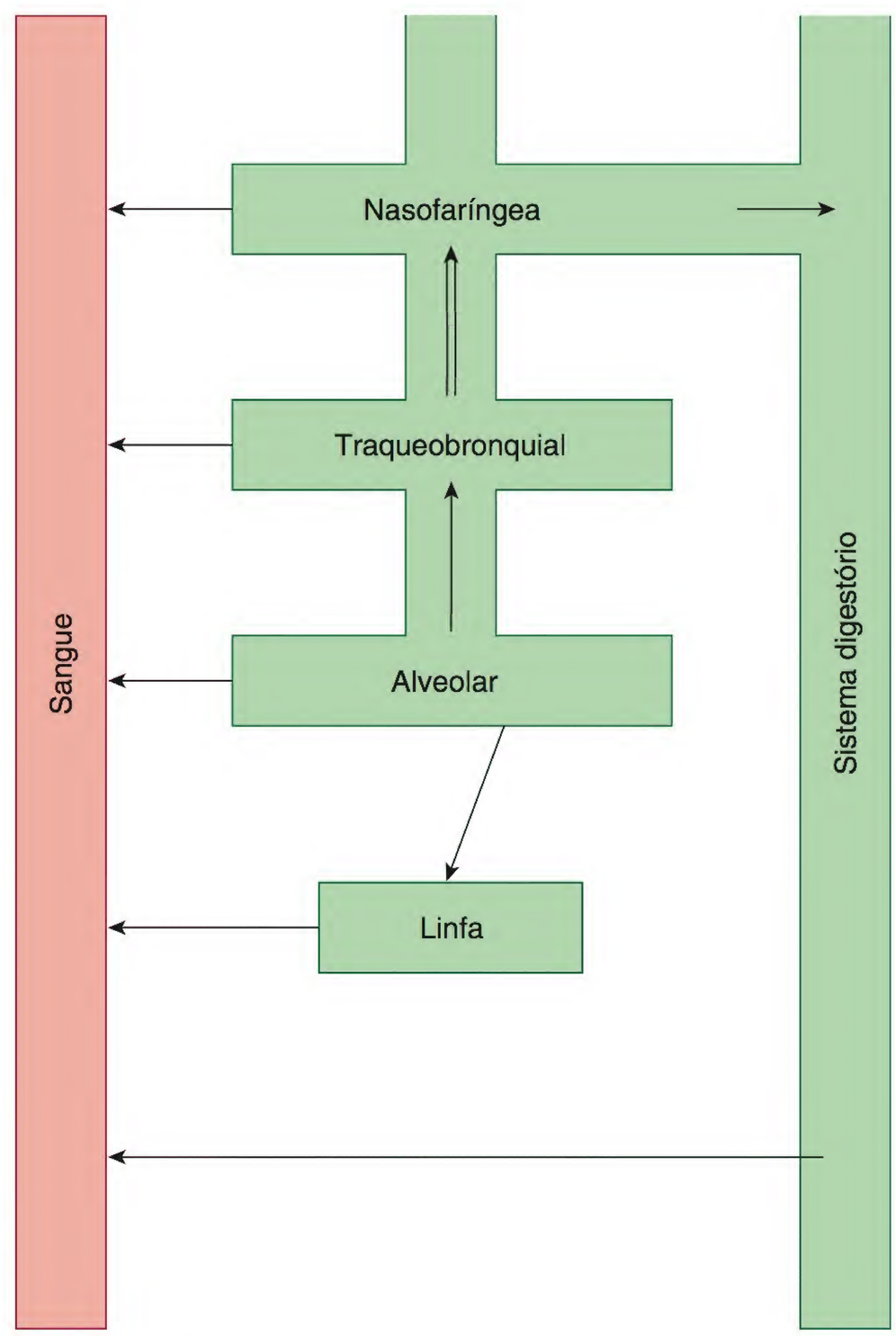


FIGURA 5.2 Diagrama esquemático da absorção e translocação de agentes químicos pelos pulmões.

Aerossóis e partículas As principais características que afetam a absorção após a exposição a aerossóis são o tamanho do aerossol e a solubilidade das substâncias químicas nele presentes. O local de deposição dos aerossóis depende amplamente do tamanho das partículas. De modo geral, quanto menor a partícula, mais longe na árvore respiratória ela será depositada. Partículas de diâmetro igual ou maior do que 5 μm, em geral, são depositadas na região nasofaríngea (Fig. 5.2) e são removidas ao se limpar ou assoar o nariz ou espirrar. O muco presente na superfície ciliada nasal propele partículas insolúveis por meio dos movimentos ciliares. Essas partículas e as inaladas pela boca são engolidas após poucos minutos. Partículas solúveis podem se dissolver no muco e ser carregadas para a faringe ou ser absorvidas pelo epitélio nasal para o sangue.

Partículas de aproximadamente 2,5 μm de diâmetro são depositadas sobretudo nas regiões traqueobronquiais, a partir das quais são retiradas pelo movimento retrógrado da camada de muco das porções ciliadas do sistema respiratório. Algumas partículas, por fim, podem ser deglutidas e absorvidas no sistema digestório. Toxicantes ou infecções virais que danificam os cílios podem prejudicar a eficiência desse processo.

Partículas com até 1 μm de diâmetro ingressam nos sacos alveolares dos pulmões. Podem ser absorvidas para o sangue ou eliminadas pela linfa após serem retiradas pelos macrófagos alveolares.

Conforme o tamanho das partículas diminui, seu número em potencial por unidade de espaço aumenta com a área total superficial das partículas. Essa relação indica que as nanopartículas têm propensão a entregar uma grande quantidade de material particulado para os pulmões. Se o material particulado for tóxico, a severidade da resposta pode estar relacionada ao tamanho da partícula.

A remoção ou absorção de material particulado dos alvéolos parece ocorrer por três mecanismos principais. No primeiro, as partículas podem ser removidas dos alvéolos por um processo físico. É considerado que as partículas depositadas na camada fluídica dos alvéolos são aspiradas para a porção mucociliar da região traqueobronquial. Deste local, são transportadas para a boca e podem ser deglutidas. No segundo mecanismo, as partículas presentes nos alvéolos podem ser removidas via fagocitose pelos macrófagos alveolares. Essas células são encontradas em grande quantidade nos pulmões e contêm muitas partículas fagocitadas de origem endógena e exógena. Elas migram para a porção final distal mucociliar, são removidas e, por fim, deglutidas. No terceiro mecanismo, a remoção pode ocorrer via linfa, apesar de o material particulado poder permanecer nos sistema linfático por longos períodos.

A remoção total de partículas dos alvéolos é relativamente ineficiente; no primeiro dia, apenas cerca de 20% das partículas são removidas, e a porção que permanece por mais de 24 horas é lentamente removida. A taxa de *clearance* pelos pulmões pode ser

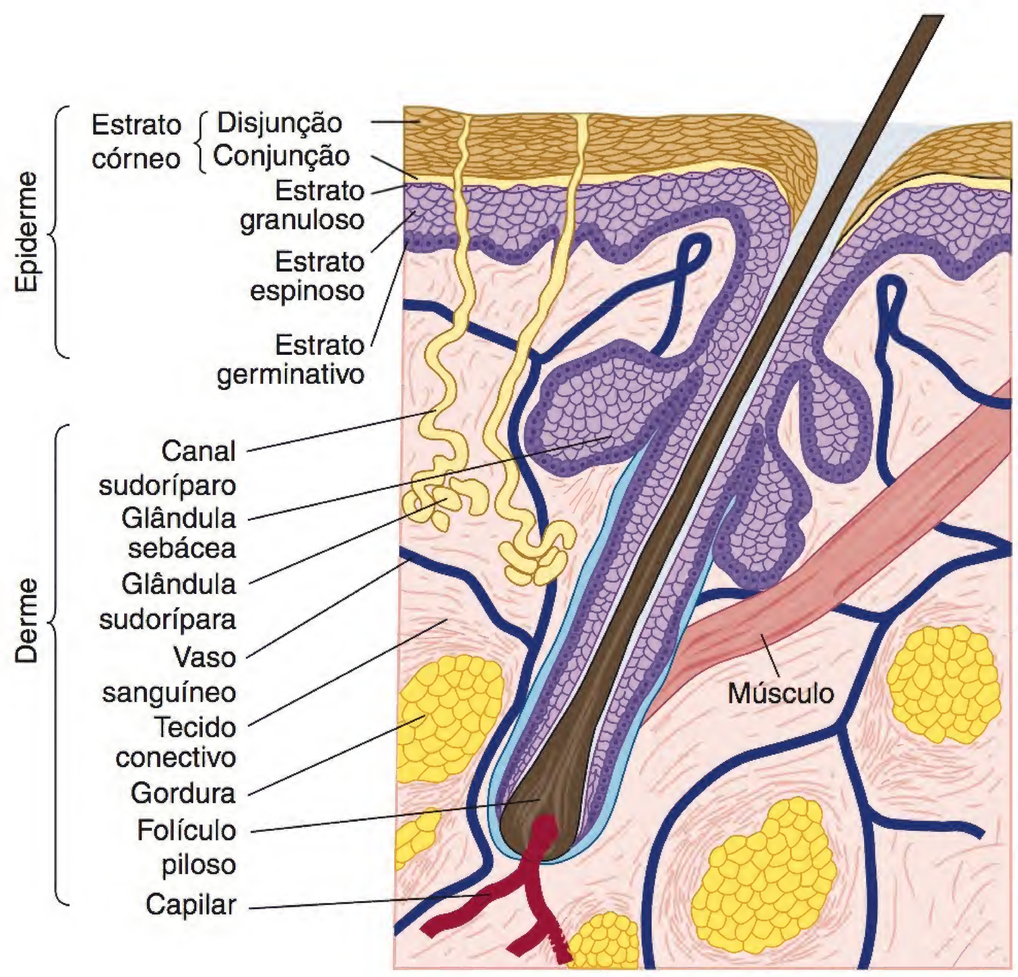


FIGURA 5.3 Diagrama de um corte transversal de pele humana.

prevista pela solubilidade de um composto nos fluidos pulmonares. Quanto menor a solubilidade, menor a taxa de remoção.

Absorção de toxicantes através da pele

A pele humana entra em contato com muitos agentes tóxicos. Felizmente, a pele não é muito permeável e por isso é uma barreira relativamente boa para separar os organismos do seu ambiente. No entanto, alguns agentes químicos podem ser absorvidos pela pele em quantidades suficientes para produzir efeitos sistêmicos.

Para ser absorvido através da pele, um toxicante deve atravessar a epiderme ou as glândulas sudoríparas, as sebáceas e os folículos pilosos. Agentes químicos que são absorvidos pela pele precisam atravessar sete camadas de células antes de ingressar nos capilares sanguíneos e linfáticos da derme (Fig. 5.3). A camada determinante da quantidade de um agente químico que será absorvida pela pele é o estrato córneo, a camada mais externa da epiderme, com células queratinizadas densamente compactadas que perderam seus núcleos e por isso são biologicamente inativas.

Todos os toxicantes se movem pelo extrato córneo por difusão passiva. Substâncias polares parecem se difundir pelas superfícies externas de filamentos proteicos do extrato córneo hidratado, enquanto moléculas não polares se dissolvem e difundem pela matriz lipídica entre os filamentos proteicos. A permeabilidade da pele depende tanto da capacidade de difusão quanto da espessura do extrato córneo. O extrato córneo, por exemplo, é muito mais espesso nas palmas das mãos e nas solas dos pés (400 a 600 μm em áreas calosas) do que nos braços, no dorso, nas pernas e no abdome (8 a 15 μm).

A absorção percutânea também consiste na difusão do toxicante através das camadas inferiores da epiderme (extrato granuloso, espinoso e germinativo) e derme. Essas camadas celulares, que são barreiras bem inferiores ao estrato córneo, contêm um meio de difusão poroso, não seletivo e aquoso. Os toxicantes atravessam essa área por difusão e ingressam na circulação sanguínea através de numerosos capilares venosos e linfáticos presentes na derme.

Diversos fatores que podem aumentar a absorção de toxicantes através da pele incluem (1) integridade do estrato córneo comprometida; (2) hidratação do estrato córneo aumentada; (3) temperatura aumentada, que eleva o fluxo sanguíneo na derme; (4) baixa solubilidade do toxicante no veículo; e (5) pequeno tamanho. O pequeno tamanho das nanopartículas irá aumentar potencialmente a penetração e a exposição sistemática a essas pequenas moléculas.

Absorção de toxicantes após vias especiais de administração

Além da absorção através da pele, pelos pulmões e pelo sistema digestório, os agentes químicos podem ser administrados a animais de laboratório por rotas especiais, incluindo (1) intraperitoneal; (2) subcutânea; (3) intramuscular; e (4) intravenosa. A via intravenosa introduz o toxicante diretamente na corrente sanguínea, eliminando o processo de absorção. A administração intraperitoneal resulta em rápida absorção de xenobióticos, em razão da alta oferta sanguínea e da área superficial relativamente ampla da cavidade peritoneal. Compostos administrados por via intraperitoneal são absorvidos inicialmente pela circulação porta e, a seguir, devem passar pelo fígado antes de atingir outros órgãos pela circulação sanguínea. Toxicantes administrados pelas vias subcutânea e intramuscular costumam ser absorvidos a velocidades menores, mas ingressam diretamente na circulação sanguínea.

A toxicidade de um agente químico pode ou não depender da via de administração. Se o toxicante for injetado por via intraperitoneal, o composto pode ser completamente extraído e biotransformado pelo fígado com subsequente excreção biliar, sem ter acesso à circulação sanguínea. Espera-se que qualquer toxicante que apresente efeito de primeira passagem com toxicidade seletiva para um órgão que não seja o fígado ou o sistema digestório seja menos tóxico quando administrado por via intraperitoneal do que quando administrado por via intravenosa, intramuscular ou subcutânea, devido a sua passagem prévia pelo fígado nesses casos.

DISTRIBUIÇÃO

Após ingressar no sangue, o toxicante pode se distribuir pelo organismo. A taxa de distribuição para os órgãos ou tecidos é determinada inicialmente pelo fluxo sanguíneo e pela taxa de difusão para fora do leito capilar nas células de um órgão ou tecido em particular. A distribuição final depende amplamente da afinidade do xenobiótico para vários tecidos.

Volume de distribuição

O volume total de água corporal pode ser dividido em três compartimentos: (1) água plasmática; (2) água intersticial; e (3) água intracelular. A água extracelular é formada por água plasmática mais água intersticial. A concentração de um toxicante

no sangue depende amplamente de seu volume de distribuição (Vd). O Vd é o volume no qual a quantidade do fármaco precisaria ser uniformemente dissolvida para produzir a concentração sanguínea observada. Uma alta concentração seria observada no plasma se o agente químico fosse distribuído apenas na água plasmática, e uma concentração bem menor seria alcançada se fosse distribuído em um volume maior, como a quantidade total de água corporal.

A distribuição de toxicantes é, em geral, complexa, e a ligação ou dissolução em diversos locais de armazenamento do organismo, como tecido adiposo, fígado e ossos, é um fator crítico para a distribuição dos agentes químicos.

Alguns toxicantes não cruzam prontamente as membranas celulares e, por isso, têm distribuição restrita, enquanto outros rapidamente atravessam as membranas celulares e são distribuídos pelo organismo. Alguns se acumulam em partes específicas do organismo como resultado da ligação a proteínas, transporte ativo ou alta solubilidade em gordura. O local de depósito de um toxicante pode também ser seu local de ação tóxica principal, mas é mais comum que não seja. Se um toxicante se acumula em um lugar que não é seu órgão ou tecido-alvo, o acúmulo pode ser visto como um processo de proteção, pois os níveis plasmáticos e, consequentemente, as concentrações do toxicante no local de ação são diminuídos. Entretanto, como qualquer agente químico em seu local de armazenamento está em equilíbrio com sua fração livre no plasma, ele é liberado na circulação conforme a fração não ligada do toxicante é eliminada.

Armazenamento de toxicantes em tecidos

Como apenas a fração livre de um agente químico está em equilíbrio no organismo, ligar-se ou dissolver-se em alguns constituintes do corpo altera de forma significativa a distribuição de um xenobiótico. Os toxicantes geralmente estão concentrados em um órgão específico, o qual pode ser ou não seu local de ação. À medida que o agente químico é biotransformado ou excretado do organismo, mais é liberado do local de armazenamento. Como resultado, a meia-vida biológica do composto armazenado pode ser muito longa.

Proteínas plasmáticas como compartimentos de armazenamento Diversas proteínas plasmáticas ligam-se a xenobióticos, assim como a alguns constituintes fisiológicos do organismo. Conforme apresentado na Figura 5.4, albumina, transferrina, globulinas e lipoproteínas podem se ligar a um amplo número de diferentes compostos.

Interações proteína-ligante ocorrem inicialmente como resultado de forças hidrofóbicas, pontes de hidrogênio e forças de van der Waals. Em razão de seu alto peso molecular, proteínas plasmáticas ligadas aos toxicantes não podem atravessar as paredes dos capilares. Como consequência, a fração do toxicante ligada a proteínas plasmáticas não é imediatamente disponível para distribuição no espaço extravascular ou filtração renal. Entretanto, a interação de um agente químico com proteínas plasmáticas é um processo reversível. À medida que o toxicante não ligado se difunde para fora dos capilares, a fração ligada dissocia-se da proteína até que a fração livre atinja o equilíbrio entre o espaço vascular e o espaço extravascular. Por sua vez, a difusão do espaço extravascular para locais mais distantes dos capilares continua, e o gradiente de concentração resultante causa uma dissociação continuada da fração ligada no plasma.

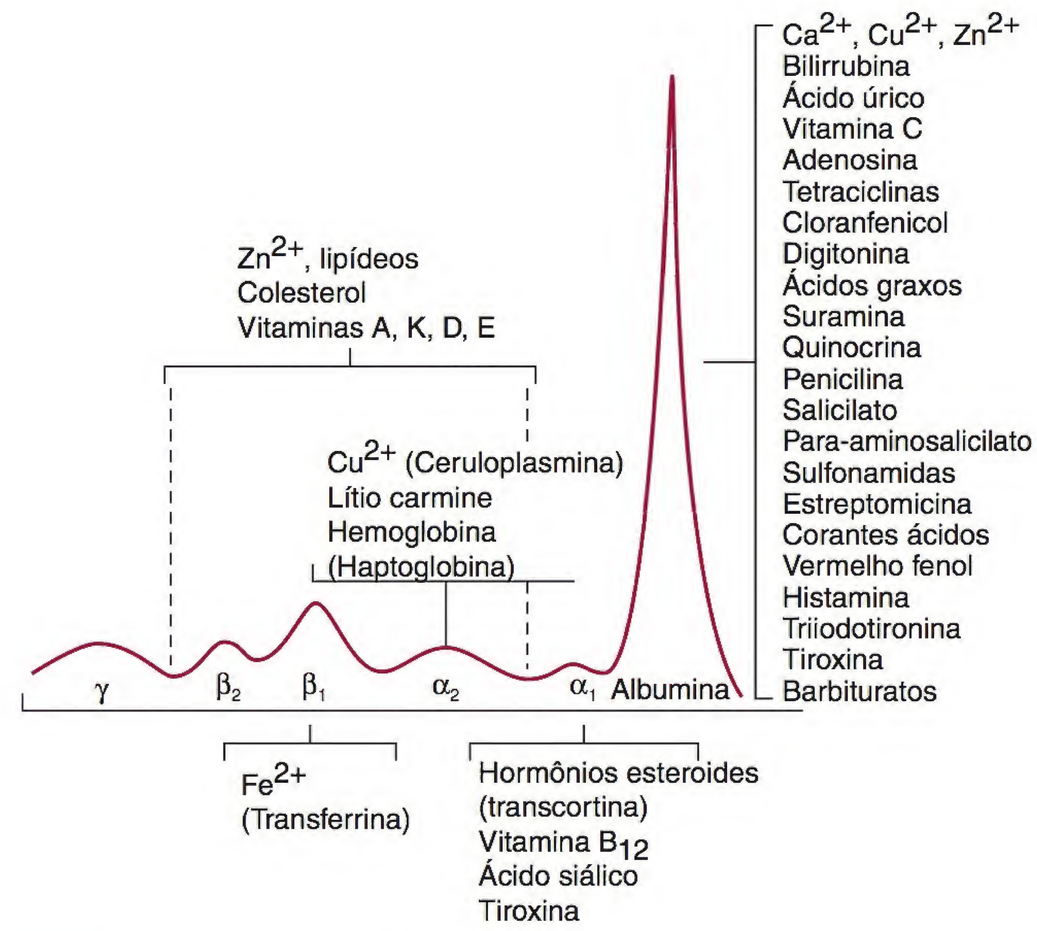


FIGURA 5.4 Interações de ligantes com proteínas plasmáticas.

A toxicidade costuma ser manifestada pela quantidade não ligada de um xenobiótico. Diversas reações tóxicas podem ocorrer se um toxicante é deslocado da proteína plasmática por um outro agente, aumentando sua fração livre no plasma. Isso irá resultar em uma concentração de equilíbrio aumentada do toxicante no órgão-alvo, com potencial para toxicidade. Xenobióticos também podem competir para deslocar compostos endógenos que estão ligados a proteínas plasmáticas.

Fígado e rins como compartimentos de armazenamento O fígado e os rins apresentam uma alta capacidade de ligação a diversas substâncias químicas. Esses dois órgãos provavelmente concentram mais toxicantes do que todos os outros órgãos combinados. Proteínas como ligandina e metalotioneína têm uma alta afinidade por muitos compostos orgânicos e metais, respectivamente.

Tecido adiposo como compartimento de armazenamento Diversos toxicantes altamente lipofílicos com alto coeficiente de partição óleo/água são distribuídos e se concentraram na gordura corporal. Esse armazenamento reduz a concentração do toxicante no tecido-alvo; consequentemente, espera-se que sua toxicidade seja menos severa em um indivíduo obeso do que em um indivíduo magro. Entretanto, a possibilidade de um aumento repentino da concentração de um agente químico no sangue e, por consequência, no órgão-alvo da toxicidade deve ser considerada quando ocorre rápida mobilização de gordura. Diversos estudos demonstraram que sinais de intoxicação podem ser produzidos pela privação de alimentos a curto prazo em animais de experimentação que foram previamente expostos a inseticidas organoclorados.

Ossos como compartimentos de armazenamento A captação de xenobióticos pelo tecido esquelético é essencialmente um fenômeno químico de superfície, com trocas ocorrendo entre os cristais de hidroxiapatita da superfície óssea e o fluido extracelular em contato com eles. O depósito e o armazenamento reversível de toxicantes nos ossos é dinâmico e pode ser prejudicial ou

não. O chumbo não é tóxico aos ossos, mas os efeitos crônicos da deposição de fluoreto (fluorose esquelética) e de estrôncio radioativo (osteossarcoma e outros neoplasmas) estão bem documentados.

Barreira hematencefálica

A barreira hematencefálica (BHE), apesar de não ser uma barreira absoluta à passagem de agentes tóxicos para o sistema nervoso central (SNC), é menos permeável que a maioria das outras áreas do corpo. Há quatro razões anatômicas e fisiológicas principais para os toxicantes não ingressarem prontamente no SNC. Primeiramente, as células endoteliais capilares do SNC estão muito unidas, deixando poucos ou nenhum poro entre as células. Em segundo lugar, as células endoteliais dos capilares cerebrais contêm proteínas mdr ATP-dependentes que expulsam alguns agentes químicos de volta para o sangue. Em terceiro, os capilares no SNC estão envolvidos em grande extensão por células gliais (astrócitos). Em quarto, a concentração de proteínas no fluido intersticial do SNC é muito inferior àquela presente em outros fluidos do organismo, limitando o movimento de compostos insolúveis em água por transportes paracelulares, o que é possível em um meio predominantemente aquoso apenas quando esses compostos estão ligados a proteínas.

De modo geral, apenas a fase não ligada do toxicante equilibra-se rapidamente com o cérebro. Lipossolubilidade e grau de ionização são determinantes importantes da taxa de ingresso de um composto no SNC. Uma lipossolubilidade maior aumenta a taxa de ingresso dos toxicantes no SNC, enquanto a ionização geralmente a reduz. Poucos xenobióticos parecem ingressar no cérebro por processos mediados por carreadores.

Processos de transporte ativo reduzem a concentração de xenobióticos no cérebro. Células endoteliais do cérebro contêm diversos membros das famílias transportadoras ativas e facilitadas (P-gp, BCRP, mrp1 e mrp2), as quais são responsáveis por transportar alguns agentes químicos das células endoteliais de volta para o sangue (Tab. 5.1). Alguns compostos lipofílicos podem ingressar no cérebro, mas são removidos de forma tão eficiente por esses transportadores que nunca atingem concentrações apreciáveis.

A BHE não está plenamente desenvolvida no nascimento, e essa é uma das razões pelas quais alguns agentes químicos são mais tóxicos para recém-nascidos do que para adultos.

Passagem de toxicantes através da placenta

Muitas substâncias estranhas podem atravessar a placenta. Além de substâncias químicas, vírus (p. ex., o vírus da rubéola), patógenos celulares (como espiroquetas da sífilis) e anticorpos antiglobulinas podem atravessá-la. Nesse aspecto, a barreira placentária não é uma barreira anatômica tão precisa quanto a BHE. Anatomicamente, a barreira placentária consiste em diversas camadas celulares, quando muito seis, entre a circulação fetal e a materna. A placenta contém sistemas de transporte ativo e enzimas de biotransformação. Esses sistemas ajudam a proteger o feto de alguns xenobióticos enquanto regulam o movimento de nutrientes essenciais.

Entre as substâncias que atravessam a placenta por difusão passiva, substâncias mais lipossolúveis atingem o equilíbrio materno-fetal mais rapidamente. Em condições de equilíbrio, as concentrações de um composto tóxico no plasma da mãe e do feto, em geral, são as mesmas. A concentração nos vários tecidos do feto depende da habilidade do tecido fetal de concentrar um toxicante. Diferenças na composição do organismo da mãe e do feto podem ser outra razão de existência de uma barreira placentária aparente. Os fetos, por exemplo, têm pouca gordura, logo, não acumulam agentes químicos altamente lipofílicos.

Redistribuição de toxicantes

Os fatores mais determinantes que afetam a distribuição de xenobióticos são o fluxo sanguíneo nos órgãos e sua afinidade por um xenobiótico. A fase inicial de distribuição é determinada fundamentalmente pelo fluxo sanguíneo para diversas partes do organismo. Assim, um órgão altamente perfundido, como o fígado, pode atingir altas concentrações iniciais de um xenobiótico. Entretanto, agentes químicos podem ter alta afinidade por um local de ligação (p. ex., proteína intracelular ou matriz óssea) ou por um constituinte celular (p. ex., gordura) e, com o tempo, serem redistribuídos para esses locais de alta afinidade.

EXCREÇÃO

Toxicantes são eliminados do organismo por diversas rotas. Muitos xenobióticos, entretanto, precisam ser transformados em produtos mais hidrossolúveis antes de serem excretados na urina (Cap. 6). Todas as secreções parecem ter habilidade de excretar agentes químicos; toxicantes são encontrados no suor, na saliva, nas lágrimas e no leite.

Excreção urinária

Compostos tóxicos são excretados na urina pelo mesmo mecanismo que os rins utilizam para remover produtos finais do metabolismo intermediário do organismo: filtração glomerular, excreção tubular por difusão passiva e secreção tubular ativa. Compostos com um peso molecular de até 60 kDa são filtrados nos glomérulos. O grau de ligação a proteínas plasmáticas afeta a taxa de filtração, pois os complexos proteína-xenobiótico são muito grandes para atravessar os poros dos glomérulos.

Um toxicante filtrado nos glomérulos pode permanecer no lúmen tubular e ser excretado com urina ou ser reabsorvido nas células tubulares do néfron de volta para a corrente sanguínea. Toxicantes com alto coeficiente de partição lipídeo/água são reabsorvidos de maneira eficiente, enquanto compostos polares e íons são excretados na urina.

Xenobióticos também podem ser excretados na urina por secreção ativa. A Figura 5.5 ilustra as várias famílias de transportadores nos rins. A família oat está localizada nas membranas basolaterais dos túbulos proximais. A família oct é responsável pela captação renal de alguns cátions. Uma vez que os xenobióticos estão nas células tubulares, elas são exsudadas para o lúmen por proteínas mdr e mrp. Em contraste, a octn2 e a PEP2 reabsorvem agentes químicos do lúmen tubular. Alguns xenobióticos menos polares podem se difundir para o lúmen. Em contraste à filtração, toxicantes ligados a proteínas estão disponíveis para transporte ativo. O ácido úrico é secretado por uma oat exclusiva, URAT1, nos túbulos renais.

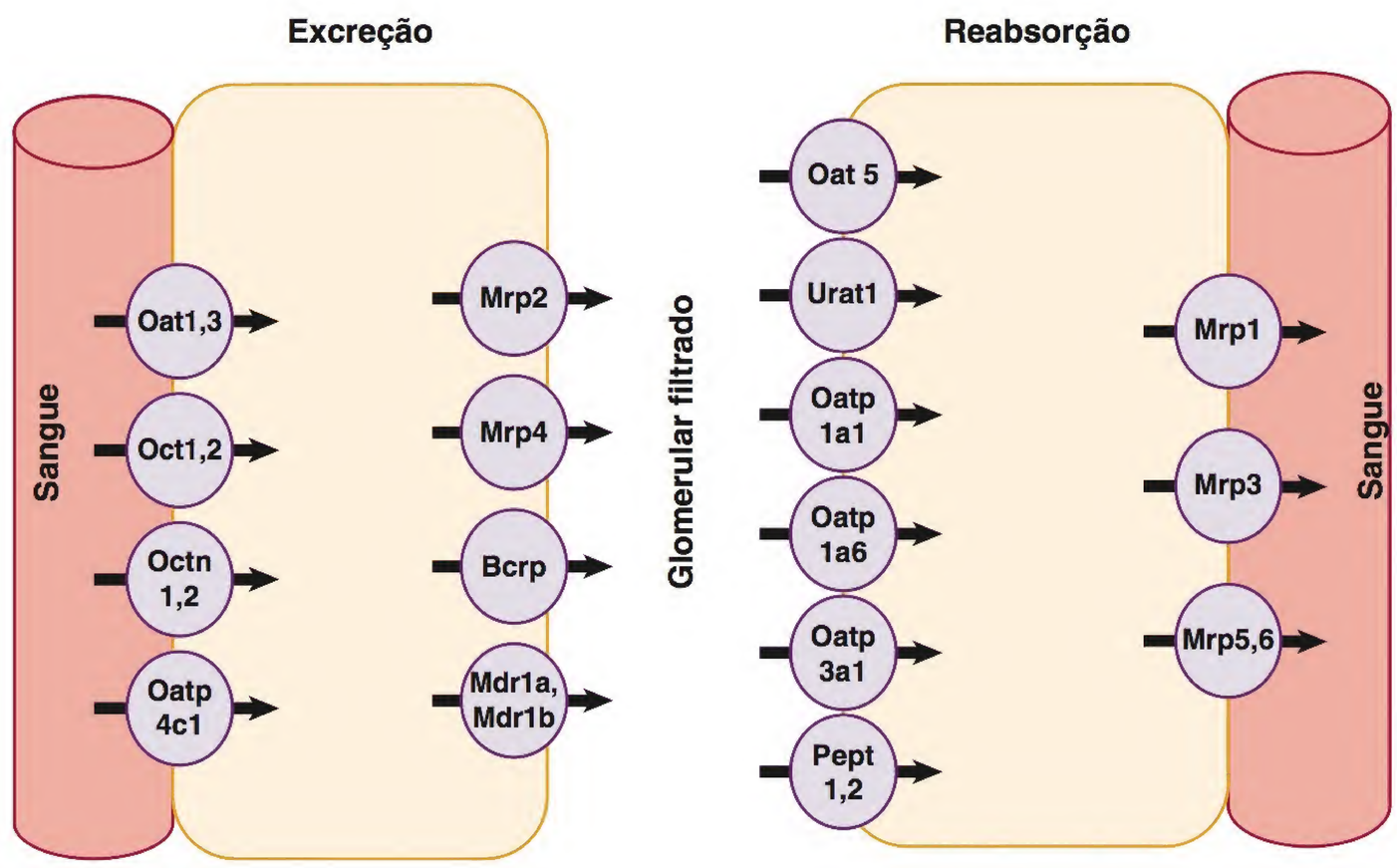


FIGURA 5.5 Modelo esquemático demonstrando os sistemas de transporte no túbulo proximal renal. As famílias de transportadores são transportadores de ânions orgânicos (oat), transportadores de cátions orgânicos (oct), proteínas resistentes a múltiplas drogas (mdr), proteínas multirresistentes a drogas (mrp), transportadores de peptídeos (PEP) e transportadores de urato (URAT).

Como muitas funções dos rins não estão completamente desenvolvidas no nascimento, alguns xenobióticos são eliminados mais lentamente em recém-nascidos do que em adultos e, assim, podem ser mais tóxicos a recém-nascidos. O *clearance* de penicilina por prematuros, por exemplo, é apenas 20% daquele observado em crianças mais velhas. O desenvolvimento desse sistema transportador de ácidos orgânicos em recém-nascidos pode ser estimulado pela administração de substâncias normalmente excretadas por esse transportador.

O túbulo proximal renal reabsorve pequenas proteínas plasmáticas que são filtradas nos glomérulos. Um toxicante que se liga a essas pequenas proteínas pode ser transportado para os túbulos proximais e manifestar sua toxicidade.

Excreção fecal

A excreção fecal é outra via importante de eliminação de xenobióticos do organismo.

Produtos não absorvidos Além de material não digerível, proporções variáveis de nutrientes e xenobióticos que estão presentes em alimentos ou são ingeridos voluntariamente (fármacos) passam pelo canal alimentar sem serem absorvidas, contribuindo para a excreção fecal.

Excreção biliar A rota de eliminação biliar talvez seja a mais importante para a excreção fecal de xenobióticos e seus metabólitos. O fígado remove os agentes tóxicos do sangue após absorção do sistema digestório, pois o sangue do sistema digestório passa pelo fígado antes de atingir a circulação sanguínea. Logo, o fígado pode retirar compostos do sangue e prevenir sua distribuição para outros locais do organismo. Além disso, o fígado é o principal local de biotransformação de toxicantes, e os metabólitos formados podem ser excretados diretamente na bile. Xenobióticos e/ou seus metabólitos que ingressam no intestino pela bile podem ser excretados nas fezes ou sofrer circulação êntero-hepática.

A Figura 5.6 ilustra os diversos transportadores localizados nas células do parênquima hepático que movem substâncias estranhas do plasma para o fígado e do fígado para a bile. A excreção biliar é regulada predominantemente pelos transportadores de xenobióticos presentes nas membranas caniculares. O peptídeo taurocolato sódio-dependente (ntcp; *sodium-dependent taurocholate peptide*) presente na porção sinusoidal da célula parenquimal transporta ácidos biliares como taurocolato para o fígado, enquanto a proteína excretora de sais biliares (bsep; *bile salt excretory protein*) transporta ácidos biliares para fora das células hepáticas e para os canalículos biliares. As membranas sinusoidais do hepatócito têm diversos transportadores, incluindo polipetídeos transportadores de ânions orgânicos (oatp) 1 e 2 e oct, que movem xenobióticos para o fígado. Uma vez no hepatócito, o xenobiótico pode ser transportado para o sangue ou a bile ou ser biotransformado por enzimas metabolizadoras de fase I e II em produtos mais hidrossolúveis que são, então, transportados para a bile ou de volta para o sangue. A proteína resistente a múltiplas drogas 1 (mdr1) e a proteína multirresistente a drogas 2 (mrp2) são responsáveis pelo transporte de xenobióticos para a bile, enquanto mrp3 e mrp6 transportam xenobióticos de volta para o sangue.

Um importante conceito em relação à excreção biliar é o fenômeno da circulação êntero-hepática. Uma vez que um composto é excretado na bile e ingressa no intestino, ele pode ser reabsorvido ou eliminado nas fezes. Muitos compostos orgânicos são conjugados antes da excreção na bile. Esses metabólitos polares não são suficientemente lipossolúveis para serem reabsorvidos. Entretanto, a microflora intestinal pode hidrolisar os conjugados glicuronídeo e sulfato tornado-os suficientemente lipofílicos para reabsorção e circulação êntero-hepática. Esse princípio foi empregado no tratamento de intoxicação por dimetilmercúrio; a ingestão de resina de politiol liga-se ao mercúrio e, assim, previne sua reabsorção e circulação.

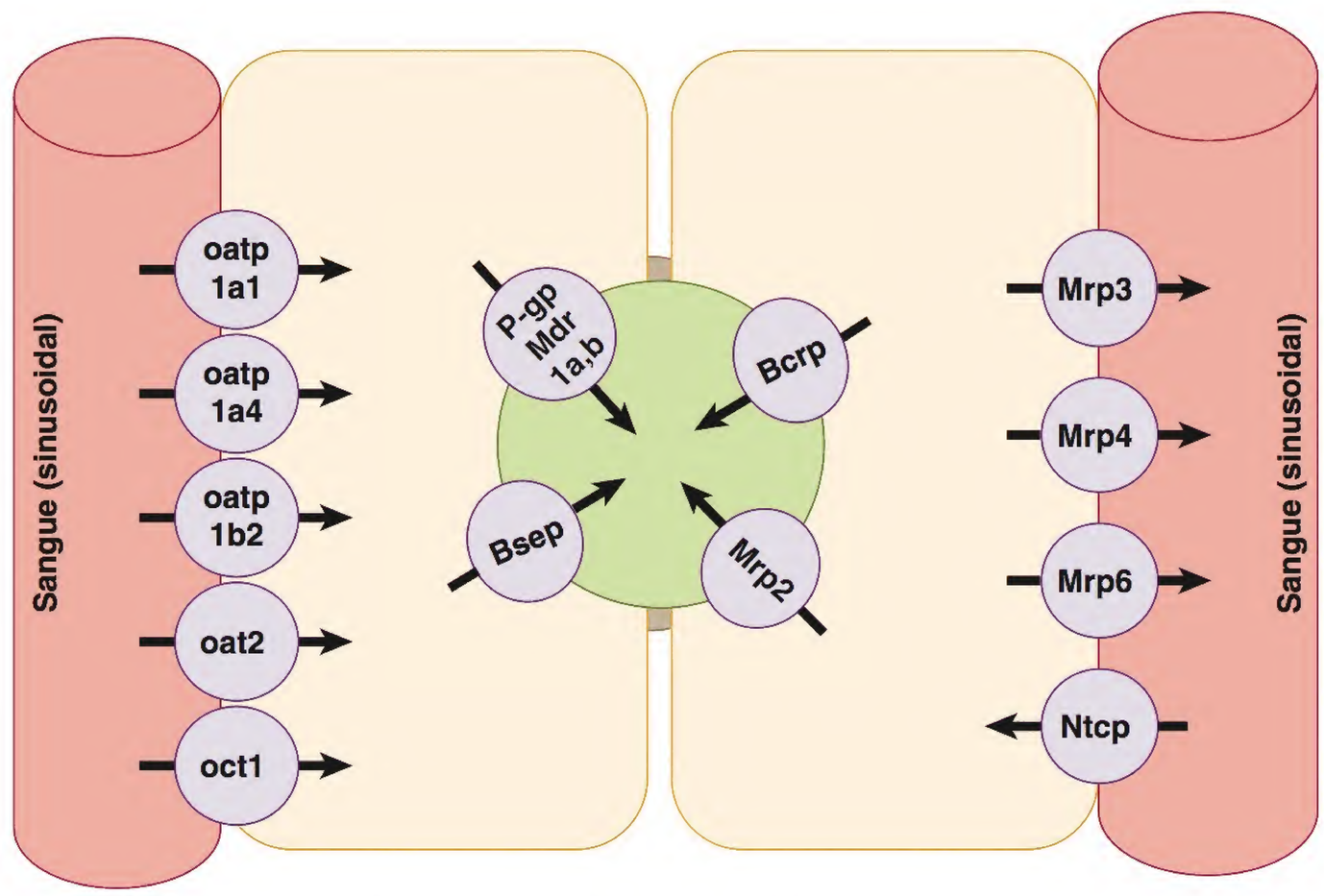


FIGURA 5.6 Modelo esquemático demonstrando os sistemas de transporte no fígado. Oatp = polipeptídeo transportador de ânion-orgânico, oct = transportador de cátion orgânico, bsep = proteína excretora de sais biliares, mdr = proteína resistente a múltiplas drogas, mrp = proteína multirresistente a drogas, BCRP = proteína de resistência a câncer de mama e ntcp = peptídeo taurocolato sódio-dependente.

Excreção intestinal Muitos agentes químicos nas fezes transferem diretamente conteúdos do sangue para o intestino por difusão passiva. Em alguns casos, a rápida esfoliação das células intestinais pode contribuir para a excreção fecal de alguns compostos. A excreção intestinal é um processo relativamente lento e uma das rotas principais de eliminação apenas para compostos com baixas taxas de biotransformação e/ou *clearance* renal ou biliar.

Parede e flora instestinais A biotransformação na mucosa e a reexcreção para o lúmen intestinal ocorrem com muitos compostos. Foi estimado que 30 a 42% da matéria fecal seca origina-se de bactérias. Além disso, uma proporção considerável de xenobióticos excretados nas fezes está associada com bactérias excretadas. No entanto, os agentes químicos podem ser profundamente alterados pelas bactérias antes da excreção nas fezes. Parece que a biotransformação pela flora intestinal favorece mais a reabsorção do que a excreção. Porém, há evidência de que, em muitos casos, os xenobióticos encontrados nas fezes são derivados de biotransformação por bactérias.

Excreção via ar exalado

Substâncias que existem predominantemente na fase gasosa à temperatura corporal e líquidos voláteis são eliminados sobretudo pelos pulmões. Uma aplicação desse princípio é vista nos testes com etilômetros para determinar a quantidade de etanol presente no organismo.

Não foram descritos sistemas de transporte especializado para a excreção de substâncias tóxicas pelos pulmões. Alguns transportadores de xenobióticos, incluindo mrp1 e P-gp, foram identificados nos pulmões, mas em toda a parte compostos parecem ser eliminados por difusão simples. A eliminação de gases é, *grosso modo*, inversamente proporcional à taxa de sua absorção. A taxa de eliminação de um gás com baixa solubilidade no sangue é limitada à perfusão, enquanto aquela de um gás com alta solubilidade no sangue é limitada pela ventilação.

Outras rotas de eliminação

Fluido cerebrospinal Todos os compostos podem sair do SNC acompanhando a maior parte do fluido cerebrospinal. Além disso, toxicantes lipossolúveis também podem sair pela BHE. O transporte ativo usando sistemas transportadores presentes na barreira sangue-fluido cerebrospinal também pode remover toxicantes.

Leite A secreção de compostos tóxicos no leite é extremamente importante, pois (1) um toxicante pode passar, pelo leite, da mãe para o bebê; e (2) compostos podem ser transferidos de vacas para humanos por meio de produtos lácteos. Agentes tóxicos são excretados no leite por difusão simples. Como o leite é mais ácido (pH 6,5) do que o plasma, compostos básicos podem estar concentrados no leite, enquanto compostos ácidos podem atingir concentrações mais inferiores no leite do que no plasma. Enquanto 3 a 4% do leite é composto de lipídeos, e o conteúdo de lipídeo do colostro após o parto é ainda maior, os xenobióticos lipossolúveis difundem-se com as gorduras do plasma para as glândulas mamárias e são excretados com o leite durante a lactação.

Suor e saliva A excreção de agentes tóxicos em suor e saliva é quantitativamente de menor importância. Compostos tóxicos excretados no suor podem produzir dermatite. Substâncias excretadas na saliva ingressam na boca, onde são geralmente deglutidas e, dessa forma, disponíveis para absorção gastrintestinal.

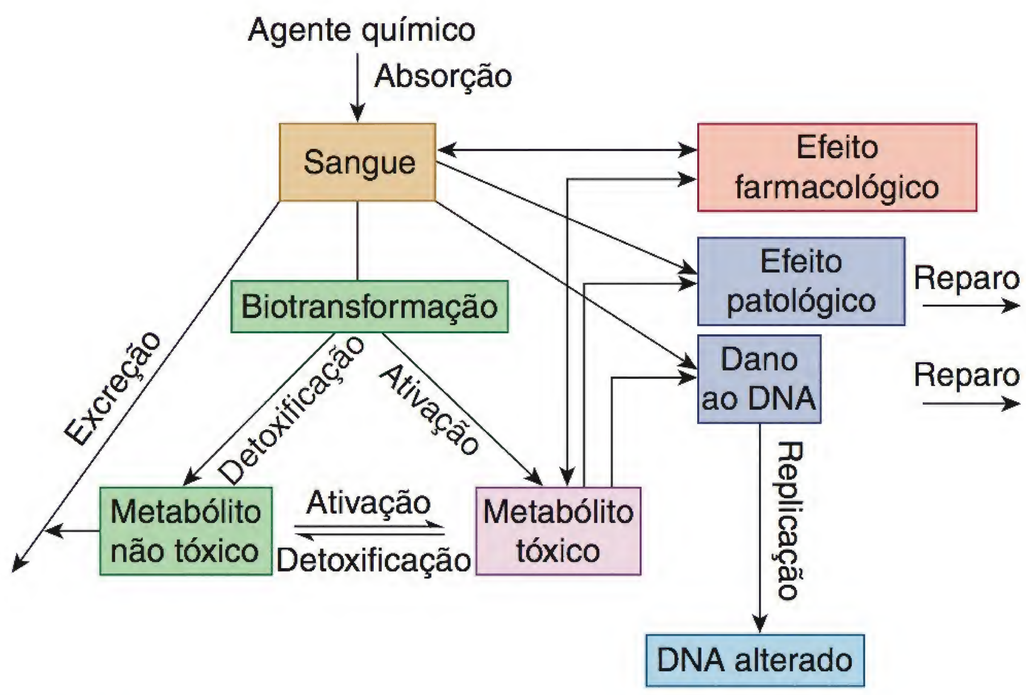


FIGURA 5.7 Representação esquemática da disposição e dos efeitos tóxicos de agentes químicos.

CONCLUSÃO

Os seres humanos estão em contato contínuo com agentes tóxicos. Dependendo de suas propriedades físicas e químicas, os toxicantes podem ser absorvidos pelo sistema digestório, pelos pulmões e/ou através pele. O corpo tem a habilidade de biotransformar e excretar esses compostos na urina, nas fezes e no ar. Entretanto, quando a taxa de absorção excede a taxa de eliminação, compostos tóxicos podem se acumular, atingindo uma concentração crítica em um órgão-alvo, podendo provocar toxicidade (Fig. 5.7). Se um agente químico exercerá toxicidade ou não, isso depende não apenas de sua potência inerente e de sua sítio-especificidade, mas também da maneira como um organismo pode descartar um toxicante.

Muitos agentes químicos apresentam toxicidade inerente muito baixa, mas precisam ser ativados por biotransformação em metabólitos tóxicos, e a resposta tóxica depende da taxa de produção desses metabólitos. De forma alternativa, um toxicante muito potente pode ser detoxificado rapidamente por biotransformação. Efeitos tóxicos estão relacionados à concentração do "agente tóxico" no local de ação (no órgão-alvo), quer um agente químico seja administrado ou gerado por biotransformação no tecido-alvo, quer em um local distante. Assim, a resposta tóxica exercida pelos agentes químicos é consideravelmente influenciada por taxas de absorção, distribuição, biotransformação e excreção.

REFERÊNCIAS

Anzai N, Kanai Y, Endou H: Organic anion transporter family: current knowledge. *J Pharmacol Sci* 100:411–426, 2006.

Goodman J: *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11th ed. New York: McGraw-Hill, 2005.

Lin JH: Tissue distribution and pharmacodynamics: a complicated relationship. *Curr Drug Metab* 7:39–65, 2006.

Mizuno N, Niwa T, Yotsumoto Y, Sugiyama Y: Impact of drug transporter studies on drug discovery and development. *Pharmacol* Rev 55:425–461, 2003.

Myllynen P, Pasanen M, Pelkonen O: Human placenta: a human organ for developmental toxicology research and biomonitoring. *Placenta* 26:361–371, 2005

Zhai H, Wilhelm KP, Maibach HI (eds): *Marzulli and Maibach's Dermatotoxicology* 7th edn. Boca Raton: CRC Press, 2008.

QUESTÕES

1. A biotransformação é vital na remoção de toxicantes da circulação. Todas as afirmações a seguir, relacionadas à biotransformação, são verdadeiras, EXCETO:
   a. Muitos toxicantes devem ser biotransformados em uma forma mais lipossolúvel antes de poderem ser excretados do organismo.
   b. O fígado é o órgão mais ativo na biotransformação de toxicantes.
   c. A hidrossolubilidade é necessária para muitos toxicantes serem excretados pelos rins.
   d. Os rins desempenham um papel principal na eliminação de toxicantes do organismo.
   e. Os pulmões desempenham um papel de importância menor em livrar o organismo de alguns tipos de toxicantes.

2. Qual das seguintes afirmações sobre transporte ativo através das membranas é FALSA?
   a. Diferentemente da difusão simples ou facilitada, o transporte ativo bombeia agentes químicos contra um gradiente eletroquímico ou de concentração.
   b. Diferentemente da difusão simples, há uma taxa na qual o transporte ativo se torna saturado e não pode mover os agentes químicos mais rapidamente.
   c. O transporte ativo exige gasto de ATP para mover os agentes químicos contra gradientes eletroquímicos ou de concentração.
   d. O transporte ativo exibe um alto nível de especificidade para os compostos que estão sendo movidos.
   e. Inibidores metabólicos não afetam a habilidade de efetuar transporte ativo.

3. Qual das seguintes alternativas pode aumentar a toxicidade de um toxicante administrado oralmente?
   a. Atividade aumentada do transportador mdr (glicoproteína-p)
   b. Biotransformação aumentada do toxicante nas células gastrintestinais
   c. Excreção aumentada do toxicante pelo fígado na bile
   d. Diluição da dose de toxicante
   e. Motilidade intestinal aumentada

4. Qual das seguintes alternativas descreve mais corretamente o efeito de primeira passagem?
   a. O organismo é mais sensível ao toxicante na primeira vez que ele passa pela circulação.
   b. Toxicantes administrados por via oral são parcialmente removidos pelo sistema digestório antes de atingirem a circulação sistêmica.
   c. Ele apenas resulta da absorção aumentada do toxicante por células gastrintestinais.
   d. Ele é geralmente referido como "eliminação pós-sistêmica".
   e. A maior parte do toxicante é excretada após a primeira vez que o sangue é filtrado pelos rins.

5. Qual das seguintes alternativas é um importante mecanismo de remoção de material particulado dos alvéolos?
   a. Tossir
   b. Espirrar
   c. Assoar o nariz
   d. Absorção na corrente sanguínea, seguida por excreção renal
   e. Engolir

6. Para um toxicante ser absorvido através da pele, ele deve passar por múltiplas camadas para atingir a circulação sanguínea. Qual das camadas a seguir é a mais importante para retardar a velocidade de absorção de um toxicante pela pele?
   a. Extrato granuloso
   b. Extrato espinoso
   c. Extrato córneo
   d. Extrato basal
   e. Derme

7. Um toxicante é seletivamente tóxico para os pulmões. Qual dos modos de liberação de toxicantes a seguir seria mais provavelmente o MENOS danoso aos pulmões?
   a. Intravenoso
   b. Intramuscular
   c. Intraperitoneal
   d. Subcutâneo
   e. Inalatório

8. Qual das alternativas a seguir NÃO é um local importante de armazenamento no organismo?
   a. Tecido adiposo
   b. Ossos
   c. Proteínas plasmáticas
   d. Músculos
   e. Fígado

9. Qual das alternativas a seguir relacionadas à barreira hematencefálica é VERDADEIRA?
   a. O cérebro de adultos e recém-nascidos é igualmente suscetível a agentes químicos prejudiciais transportados pelo sangue.
   b. O grau de lipossolubilidade é um fator determinante importante que influencia se uma substância irá atravessar a barreira hematencefálica ou não.
   c. Os astrócitos participam do aumento da permeabilidade da barreira hematencefálica.
   d. Os processos de transporte ativo aumentam a concentração de xenobióticos no cérebro.
   e. As células endoteliais dos capilares do SNC têm grandes poros em suas membranas basais.

10. Qual das alternativas a seguir irá resultar em REDUÇÃO da excreção de compostos tóxicos pelos rins?
   a. Um composto tóxico com peso molecular de 25.000 Da.
   b. Atividade aumentada da proteína resistente a múltiplas drogas (mdr).
   c. Atividade aumentada da proteína multirresistente a drogas (mrd).
   d. Atividade aumentada do transportador de cátions orgânicos.
   e. Hidrofilicidade aumentada dos compostos tóxicos.

CAPÍTULO

6

Biotransformação de Xenobióticos

Andrew Parkinson e Brian W. Ogilvie

PRINCÍPIOS GERAIS

Propriedades básicas das enzimas biotransformadoras de xenobióticos

Biotransformação *versus* metabolismo

Aspectos estereoquímicos da biotransformação

Categorias de enzimas de biotransformação xenobióticos

Distribuição das enzimas biotransformadoras de xenobióticos

HIDRÓLISE, REDUÇÃO E OXIDAÇÃO

Hidrólise

Carboxilesterases, colinesterases e paraoxonase

Pró-farmacos e fosfatase alcalina

Peptidases

Epóxido hidrolase

Redução

Azo e nitro redução

Redução de carbonila

Redução de dissulfetos

Redução de sulfóxido e *N*-óxido

Redução de quinona

Desalogenação

Oxidação

Álcool desidrogenase

Aldeído desidrogenase

Dihidrodiol desidrogenase

Molibdênio hidroxilases

Xantina oxidorredutase

Aldeído oxidase

Monoaminoxidase

Cooxidação dependente de peroxidase

Flavina monoxigenase

Citocromo P450

Ativação de xenobióticos pelo citocromo P450

Inibição do citocromo P450

Indução do citocromo P450

Camundongos nocauteados (*knockout*) P450

CONJUGAÇÃO

Glicuronidação

Sulfonação

Metilação

Acetilação

Conjugação com aminoácidos

Conjugação com glutationa

PONTOS-CHAVE

- *Biotransformação* é a conversão metabólica de substâncias endógenas e xenobióticos para compostos com maior solubilidade em água.
- A biotransformação de xenobióticos é realizada por um número limitado de enzimas com ampla especificidade de substratos.
- A reações de fase I incluem hidrólise, redução e oxidação. Essas reações expõem ou introduzem um grupamento funcional (–OH, –NH_2, –SH ou –COOH) e normalmente resultam somente em pequeno aumento da hidrofilicidade.
- As reações de fase II incluem glicuronidação, sulfonação (mais frequentemente chamada de sulfatação), acetilação, metilação e conjugação com glutationa (síntese de ácido mercaptúrico), as quais normalmente resultam em hidrofilicidade e eliminação aumentadas.

Biotransformação é a conversão metabólica de substâncias endógenas e xenobióticos para compostos de maior solubilidade em água. Em geral, as propriedades físicas de um xenobiótico são modificadas daquelas que favorecem a absorção (lipofilia) para aquelas que favorecem a excreção na urina e nas fezes (hidrofilia). Uma exceção a essa regra é a eliminação de compostos voláteis por exalação.

As modificações químicas de um xenobiótico devidas à biotransformação podem alterar seus efeitos biológicos. Alguns fármacos sofrem biotransformação para metabólitos ativos que exercem seus efeitos farmacodinâmicos ou tóxicos. Na maioria dos casos, entretanto, a biotransformação elimina o efeito farmacológico de um fármaco e reduz a toxicidade dos xenobióticos. As enzimas que catalisam as reações de biotransformação frequentemente determinam a intensidade e a duração da ação de fármacos e desempenham um papel-chave na toxicidade e na tumorogenia químicas.

PRINCÍPIOS GERAIS

Propriedades básicas das enzimas biotransformadoras de xenobióticos

A biotransformação de xenobióticos é realizada por um número limitado de enzimas com ampla especificidade de substratos. A síntese de algumas dessas enzimas é disparada pelo xenobiótico (pelo processo de indução enzimática), mas, na maioria dos casos, as enzimas são expressas constitutivamente (i.e., elas são sintetizadas na ausência de um estímulo externo discernível). Embora a síntese de hormônios esteroides seja catalisada por enzimas do sistema citocromo P450 em tecidos esteroidogênicos, essa família de enzimas no fígado converte os hormônios esteroides em metabólitos solúveis em água para serem excretados.

A estrutura (ou seja, a sequência de aminoácidos) de uma dada enzima biotransformadora pode diferir entre os indivíduos, o que pode determinar diferenças na velocidade de biotransformação de xenobióticos. O estudo das causas, da prevalência e do impacto das diferenças herdadas nas enzimas de biotransformação de xenobióticos é conhecido como *farmacogenética*.

Biotransformação *versus* metabolismo

Os termos *biotransformação* e *metabolismo* são frequentemente usados como sinônimos, sobretudo quando aplicados a fármacos. O termo *metabolismo* costuma ser empregado para descrever o destino total de um xenobiótico, o que inclui absorção, distribuição, biotransformação e eliminação. O termo, entretanto, é usado com frequência com o significado de biotransformação, o que é compreensível do ponto de vista de que os produtos da biotransformação de xenobióticos são conhecidos como *metabólitos*. Além disso, indivíduos com deficiências enzimáticas genéticas que resultam em uma biotransformação reduzida de xenobióticos são descritos como *metabolizadores lentos*, em vez de biotransformadores lentos.

Aspectos estereoquímicos da biotransformação

As propriedades estereoquímicas influenciam na interação entre um xenobiótico e uma enzima biotransformadora. Muitos xenobióticos, especialmente fármacos, contêm um ou mais centros quirais e podem existir na forma de dois estereoisômeros ou enantiômeros. A biotransformação de alguns xenobióticos quirais ocorre de forma estereosseletiva, ou seja, um enantiômero (estereoisômero) é biotransformado mais rápido do que seu antípoda.

Categorias de enzimas biotransformadoras de xenobióticos

As reações catalisadas por enzimas biotransformadoras de xenobióticos são, em geral, divididas em quatro categorias: (1) hidrólise, (2) redução, (3) oxidação e (4) conjugação (Tab. 6.1). As reações de hidrólise, redução e oxidação expõem ou introduzem um grupamento funcional (–OH, $–NH_2$, –SH ou –COOH) e normalmente resultam apenas em pequeno aumento da hidrofilicidade. As reações de biotransformação conjugativas incluem glicuronidação, sulfonação (mais comumente chamada de sulfatação), acetilação, metilação, conjugação com glutationa (síntese de ácido mercaptúrico) e conjugação com aminoácidos (tais como glicina, taurina e ácido glutâmico). A maioria dessas reações resulta em um grande aumento da hidrofilicidade dos xenobióticos e, assim, promove um aumento significativo na excreção de substâncias estranhas.

Distribuição das enzimas biotransformadoras de xenobióticos

As enzimas de biotransformação de xenobióticos estão amplamente distribuídas no corpo e presentes em diversos compartimentos subcelulares. Nos vertebrados, o fígado é a fonte mais rica de enzimas catalisadoras de reações de biotransformação. Essas enzimas também estão localizadas na pele, no pulmão, na mucosa nasal, nos rins, nos olhos, no trato gastrintestinal, assim como em outros tecidos. A microflora intestinal exerce um papel importante na biotransformação de certos xenobióticos. As enzimas biotransformadoras estão localizadas primariamente no retículo endoplasmático (microssomos) ou na fração solúvel do citoplasma (citosol), com quantidades menores na mitocôndria, no núcleo e nos lisossomos (Tab. 6.1).

HIDRÓLISE, REDUÇÃO E OXIDAÇÃO

Hidrólise

Carboxilesterases, colinesterases e paraoxonase A hidrólise de ésteres de ácidos carboxílicos, amidas e tioésteres é prioritariamente catalisada por carboxilesterases e por duas colinesterases: a verdadeira acetilcolinesterase nas membranas eritrocíticas e a pseudocolinesterase, que também é conhecida como butirilcolinesterase e está localizada no soro. Ésteres de ácido fosfórico são hidrolisados pela paraoxonase, uma enzima sérica também conhecida como arildialquilfosfatase. Anidridos de ácido fosfórico são hidrolisados por uma organofosfatase relacionada.

As carboxilesterases no soro e nos tecidos e a colinesterase no soro determinam coletivamente a duração e o local de ação

TABELA 6.1 Vias gerais de biotransformação de xenobióticos e suas principais localizações subcelulares

Reação	Enzima ou reação específica	Localização
Hidrólise	Carboxilesterase	Microssomos, citosol, lisossomos, sangue
	Fosfatase alcalina	Membrana plasmática
	Peptidase	Sangue, lisossomos
	Epóxido hidrolase	Microssomos, citosol
Redução	Azo e nitro redução	Microflora
	Redução de carbonila (aldo-ceto)	Citosol, microssomos, sangue
	Redução de dissulfeto	Citosol
	Redução de sulfóxido	Citosol
	Redução de quinona	Citosol, microssomos
	Dihidropirimidina desidrogenase	Citosol
	Desalogenação redutiva	Microssomos
	Desidroxilação (citocromo b_5)	Microssomos
	Desidroxilação (aldeído oxidase)	Citosol
Oxidação	Álcool desidrogenase	Citosol
	Aldeído desidrogenase	Mitocôndria, citosol
	Aldeído oxidase	Citosol
	Xantina oxidase	Citosol
	Monoaminoxidase	Mitocôndria
	Diamina oxidase	Citosol
	Peroxidase	Microssomos, lisossomos, saliva
	Flavina monoxigenases	Microssomos
	Citocromo P450	Microssomos
Conjugação	UDP-glicuronosiltransferase	Microssomos
	Sulfotransferase	Citosol
	Glutationa transferase	Microssomos
	Aminoácido transferase	Mitocôndria, microssomos
	N-Acetil transferase	Mitocôndria, citosol
	Metiltransferase	Citosol, microssomos, sangue

de certos fármacos. De forma geral, a hidrólise enzimática das amidas ocorre de forma mais lenta do que a dos ésteres. A hidrólise de xenobióticos ésteres e amidas em humanos é catalisada principalmente por duas carboxilesterases, denominadas hCE1 e hCE2.

Carboxilesterases são glicoproteínas que estão presentes no soro e na maioria dos tecidos. As carboxilesterases hidrolisam numerosos compostos lipídicos endógenos e geram metabólitos farmacologicamente ativos a partir de pró-fármacos ésteres ou amidas. Além disso, as carboxilesterases podem converter xenobióticos para metabólitos tóxicos e tumorigênicos.

As colinesterases exercem um papel importante limitando a toxicidade de organofosforados, os quais inibem a acetilcolinesterase e, por consequência, a finalização da ação da acetilcolina. Fatores que diminuem a atividade das esterases potencializam os efeitos tóxicos de organofosforados, enquanto fatores que aumentam a atividade das esterases séricas têm um efeito protetor.

Paraoxonases, enzimas cálcio-dependentes que contêm um grupamento sulfidrila crítico, catalisam a hidrólise de uma ampla gama de compostos orgânicos, incluindo lactonas. Assim, "lactonase" é um nome mais abrangente para esse grupo de enzimas.

Pró-fármacos e fosfatase alcalina Muitos pró-fármacos são planejados para serem hidrolisados por enzimas hidrolíticas, como carboxilesterases, colinesterases e fosfatase alcalina. Assim, essas enzimas podem ser utilizadas para ativar pró-fármacos *in vivo* e, dessa forma, gerar fármacos anticancerígenos potentes em locais-alvo altamente selecionados, liberando o fármaco nas proximidades das células tumorais.

Peptidases Numerosos peptídeos humanos e diversos hormônios peptídeos recombinantes, assim como fatores de crescimento, citocinas, receptores solúveis e anticorpos monoclonais, são usados terapeuticamente. Esses peptídeos são hidrolisados no sangue e nos tecidos por uma variedade de peptidases, as quais clivam a ligação amida entre aminoácidos adjacentes.

Epóxido hidrolase As epóxido hidrolases catalisam a adição *trans* de água a epóxidos alquenos e óxidos arenos e estão presentes virtualmente em todos os tecidos. Exercem uma função importante na detoxificação de epóxidos eletrofílicos que, de outra forma, poderiam ligar-se a proteínas e ácidos nucleicos e causar toxicidade celular e mutações genéticas. Existem cinco formas distintas de epóxido hidrolases em mamíferos: epóxido hidrolase microssomal (HEm), epóxido hidrolase solúvel (HEs), epóxido hidrolase colesterol, hidrolase LTA4 e hepoxilina hidrolase. As últimas três enzimas parecem hidrolisar exclusivamente epóxidos endógenos e, virtualmente, não apresentam nenhuma capacidade de detoxificar xenobióticos óxidos.

Em contraste, a elevada especificidade de substratos apresentada pelas hepoxilina colesterol, LTA4 e hepoxilina, a HEm e a HEs hidrolisam muitos epóxidos alquenos e óxidos arenos. Em geral, essas duas formas de epóxido hidrolase e as enzimas do citocromo P450, as quais são, com frequência, responsáveis pela produção dos epóxidos tóxicos, apresentam uma localização celular que presumivelmente garante a detoxificação rápida de epóxidos de alquenos e óxidos de arenos gerados durante a biotransformação oxidativa de xenobióticos.

A epóxido hidrolase é uma das várias enzimas indutíveis nos microssomos hepáticos. Sua indução está invariavelmente associada à indução do citocromo P450.

Redução

Certos metais e xenobióticos contendo grupamentos aldeído, cetona, dissulfeto, sulfóxido, quinona, *N*-óxido, alqueno, azo ou nitro são frequentemente reduzidos *in vivo*. A reação pode acontecer enzimaticamente ou não enzimaticamente por meio da interação com agentes redutores, como as formas reduzidas de glutationa, FAD, FMN e NADP. Da mesma forma, enzimas como álcool desidrogenase (ADH), aldeído oxidase e citocromo P450 podem catalisar tanto reações oxidativas como redutivas, dependendo do substrato e das demais condições.

Azo e nitro redução As reações de azo e nitro redução são catalisadas pela microflora intestinal e sob certas condições (p. ex., baixa pressão de oxigênio) por duas enzimas hepáticas: citocromo P450 e NADP-quinona oxidorredutase (também conhecida como DT-diaforase). As reações requerem NADPH e são inibidas por oxigênio. O ambiente anaeróbico do trato gastrintestinal baixo é apropriado para as reações de azo e nitro redução.

Redução de carbonila A redução de certos aldeídos para álcoois primários e de cetonas para álcoois secundários é catalisada por redutases NAD(P)H-dependentes, pertencentes a uma das duas superfamílias: aldo-ceto redutases (AKRs) e desidrogenases/redutases de cadeia curta (SDRs). As AKRs são pertencentes a uma superfamília de enzimas citosólicas que reduzem tanto compostos xenobióticos como endobióticos. As SDRs carbonila redutases são enzimas monoméricas, presentes no sangue e na fração citosólica de vários tecidos. A atividade hepática de carbonila redutase está presente principalmente na fração citosólica, com uma carbonila redutase diferente estando presente nos microssomos.

Redução de dissulfetos A redução de dissulfetos pela glutationa é um processo de três passos, sendo que o último deles é catalisado pela glutationa redutase. Os primeiros passos podem ser catalisados pela glutationa *S*-transferase ou podem ocorrer de forma não enzimática.

Redução de sulfóxidos e *N*-óxidos Enzimas tioredoxina – dependentes no citosol do fígado e do rim podem reduzir sulfóxidos, os quais são formados pelo citocromo P450. Sob tensão de oxigênio reduzida, a redução NADPH – dependente de *N*-óxidos nos microssomos hepáticos pode ser catalisada pelo citocromo P450 ou pela NADPH-citocromo P450 redutase.

Redução de quinona Quinonas podem ser reduzidas para hidroquinonas por duas flavoproteínas citosólicas, NQO1 e NQO2, sem o consumo de oxigênio. NADPH-quinona oxidorredutase-1 (DT-diaforase) e NADPH-quinona oxidorredutase-2 têm especificidades de substratos diferenciadas. A redução de dois elétrons das quinonas também pode ser catalisada pela carbonil redutase. Essa via de redução de quinonas é essencialmente não tóxica e não está associada ao estresse oxidativo.

A segunda via de redução de quinonas catalisada pela NADPH-citocromo P450 redutase resulta na formação de um radical livre semiquinona pela redução de um elétron da quinona. O estresse oxidativo associado com a auto-oxidação de um radical livre semiquinona, o qual produz ânion superóxido, peróxido de hidrogênio e outras espécies ativas de oxigênio, pode ser extremamente citotóxico.

As propriedades da hidroquinona determinam quando, durante o metabolismo de xenobióticos contendo quinina, a NQO atua como um antioxidante protetor ou um ativador pró-oxidante, levando a formação de espécies reativas de oxigênio e radicais livres semiquinona reativos.

Desalogenação Existem três mecanismos principais de remoção de halogênios (F, Cl, Br e I) de xenobióticos alifáticos: a (1) *desalogenação redutiva* envolve a troca de um halogênio por hidrogênio; a (2) *desalogenação oxidativa* substitui um halogênio e hidrogênio no mesmo átomo de carbono por oxigênio; e a (3) *desalogenação dupla* envolve a eliminação de dois halogênios

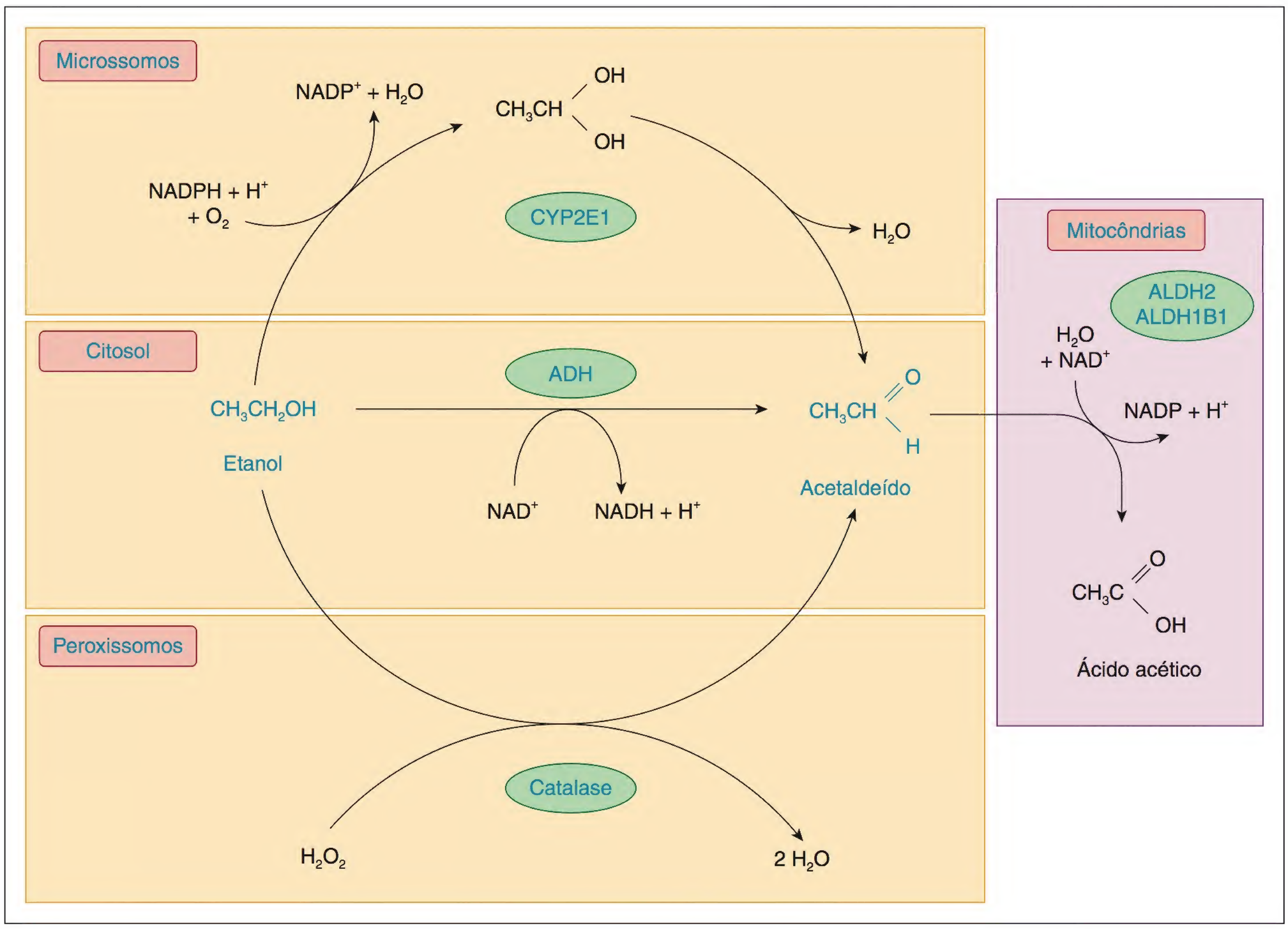


FIGURA 6.1 Oxidação do etanol para acetaldeído pela etanol desidrogenase (ADH), citocromo P450 (CYP2E1) e catalase. Note que a oxidação do etanol para ácido acético envolve múltiplas organelas.

em carbonos adjacentes para formar uma ligação dupla carbono-carbono. Uma variação desse terceiro mecanismo é a *desidroalogenação*, na qual um halogênio e um hidrogênio em átomos de carbono adjacentes são eliminados para formar uma ligação dupla carbono-carbono.

Oxidação

Álcool desidrogenase A álcool desidrogenase é uma enzima citosólica presente em diversos tecidos, incluindo o fígado, que possui os níveis mais elevados, o pulmão e a mucosa gástrica. Existem cinco classes principais de ADH. As isoenzimas ADH da classe I (α-ADH, β-ADH e γ-ADH) são responsáveis pela oxidação do etanol e de outros álcoois alifáticos pequenos. A ADH classe II (π-ADH) é expressa sobretudo no fígado, onde oxida preferencialmente álcoois alifáticos maiores e aromáticos. Álcoois de cadeia longa (pentanol e superiores) e álcoois aromáticos são substratos preferenciais para a ADH da classe III (χ-ADH). A ADH classe IV (σ- ou μ-ADH), que não é expressa no fígado, é a mais ativa das ADHs de cadeia média para oxidar o retinol. A ADH classe V não possui designação de subunidade.

Aldeído desidrogenase A aldeído desidrogenase (ALDH) oxida aldeídos para ácidos carboxílicos com NAD^+ como cofator. As enzimas também têm atividade esterase. As 19 diferentes ALDHs identificadas diferem em sua sequência primária de aminoácidos e na estrutura quaternária. Diferentemente da ALDH1A1 e ALDH2, que reduzem, de forma específica, o NAD^+, a ALDH3A1 reduz tanto NAD^+ como $NADP^+$.

Como apresentado na Figura 6.1, a ALDH2 é uma enzima mitocondrial que, em virtude de sua elevada afinidade, é responsável primariamente pela oxidação de aldeídos simples, tais como o acetaldeído. Deficiências genéticas em outras ALDHs prejudicam o metabolismo de outros aldeídos.

Dihidrodiol desidrogenase A superfamília AKR inclui diversas formas de dihidrodiol desidrogenases, oxidorredutases citosólicas, NADPH-dependentes e que oxidam vários hidrocarbonetos aromáticos policíclicos a metabólitos potencialmente tóxicos.

Molibdênio hidrolases Duas principais molibdênio hidrolases ou molibdoenzimas participam na biotransformação de xenobióticos: aldeído oxidase e xantina oxidorredutase (também conhe-

cida como xantina oxidase [XO]). A sulfito redutase, uma terceira molibdoenzima, oxida o sulfito, um poluente aéreo irritante, para sulfato, o qual é relativamente inócuo. As três molibdoenzimas são enzimas flavoproteínas. Durante a oxidação dos substratos, a aldeído oxidase e a XO são reduzidas e, então, reoxidadas pelo oxigênio molecular. O oxigênio incorporado no xenobiótico é derivado da água, e não do oxigênio, o que distingue as oxidases das oxigenases. Xenobióticos que são bons substratos para molibdoenzimas tendem a ser substratos pobres para o citocromo P450 e vice-versa.

Xantina oxidorredutase A xantina desidrogenase (XD) e a XO são duas formas da mesma enzima que diferem no aceptor de elétrons usado no passo final da catálise. No caso da XD, o aceptor final de elétrons é o NAD^+, enquanto no caso da XO, o aceptor final de elétrons é o oxigênio. A XD é convertida para XO pela oxidação dos resíduos de cisteína e/ou por clivagem proteolítica. A conversão de XD para XO *in vivo* pode ser importante nas lesões por isquemia-reperfusão, lesões teciduais mediadas por lipopolissacarídeos e na hepatotoxicidade induzida pelo etanol. A XO contribui para o estresse oxidativo e para a lipoperoxidação lipídica porque a atividade oxidase da XO envolve a redução do oxigênio molecular, a qual pode levar a formação de espécies reativas de oxigênio.

O alupurinol e outros inibidores da xantina oxidorredutase estão sendo avaliados para o tratamento de diversos tipos de lesões isquemia-reperfusão e lesões vasculares que parecem ser mediadas, pelo menos em parte, pela xantina oxidorredutase.

Aldeído oxidase A molibdoenzima aldeído oxidase existe somente na forma oxidase. A aldeído oxidase citosólica transfere elétrons ao oxigênio molecular, o qual pode gerar espécies reativas de oxigênio e levar à peroxidação lipídica. A aldeído oxidase exerce um papel importante no catabolismo de aminas biogênicas e das catecolaminas.

Monoaminoxidase As monoaminoxidases (MAOs) estão envolvidas na desanimação oxidativa de aminas primárias, secundárias e terciárias, incluindo a serotonina e um número de outros xenobióticos. A desanimação oxidativa de uma amina primária produz amônia e um aldeído, enquanto a desanimação oxidativa de uma amina secundária produz uma amina primária e um aldeído. Os aldeídos formados pela MAO costumam ser oxidados adicionalmente por outras enzimas para formar os ácidos carboxílicos correspondentes. A MAO está

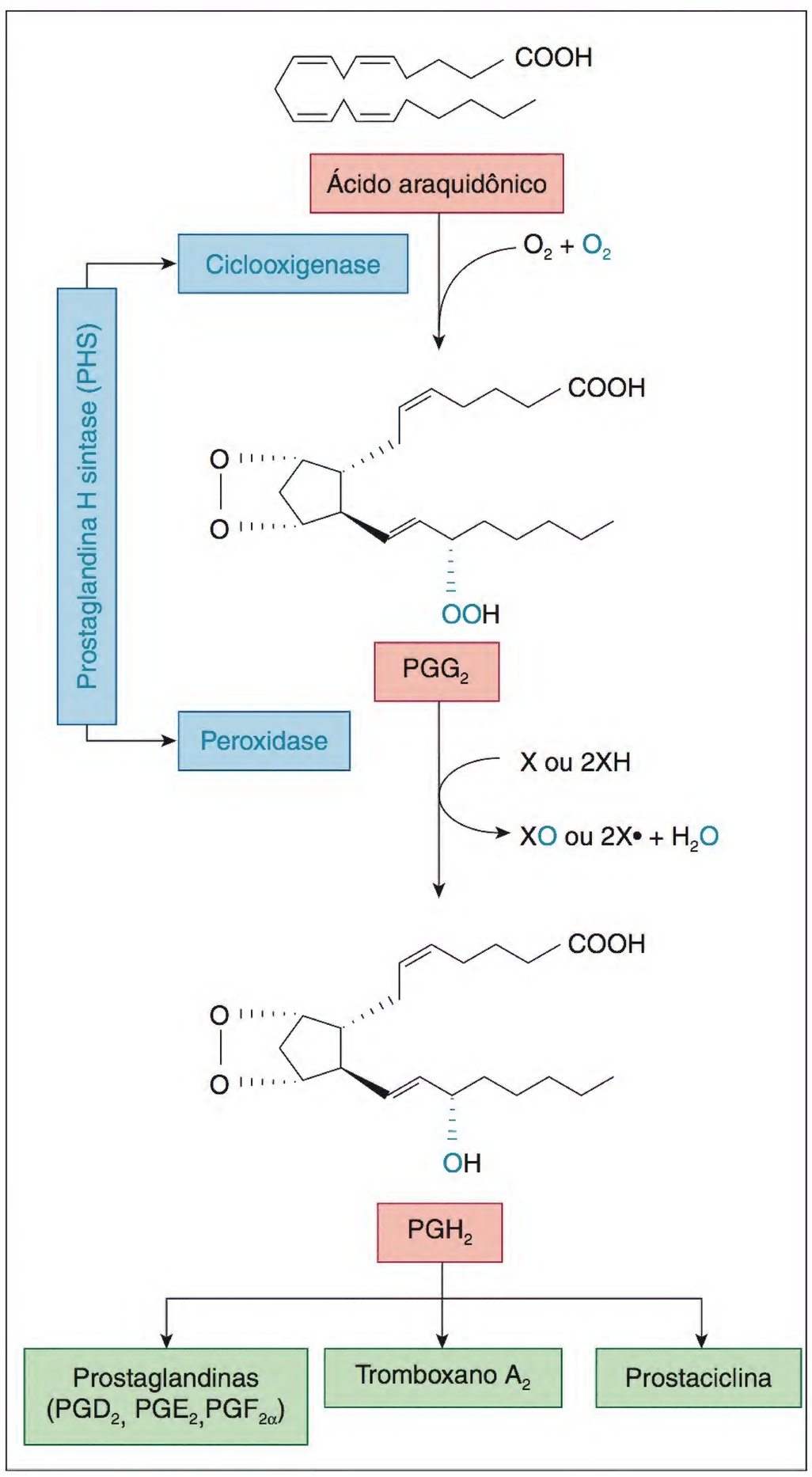


FIGURA 6.2 Cooxidação de xenobióticos durante a conversão de ácido araquidônico para PGH_2 pela prostaglandina H sintase.

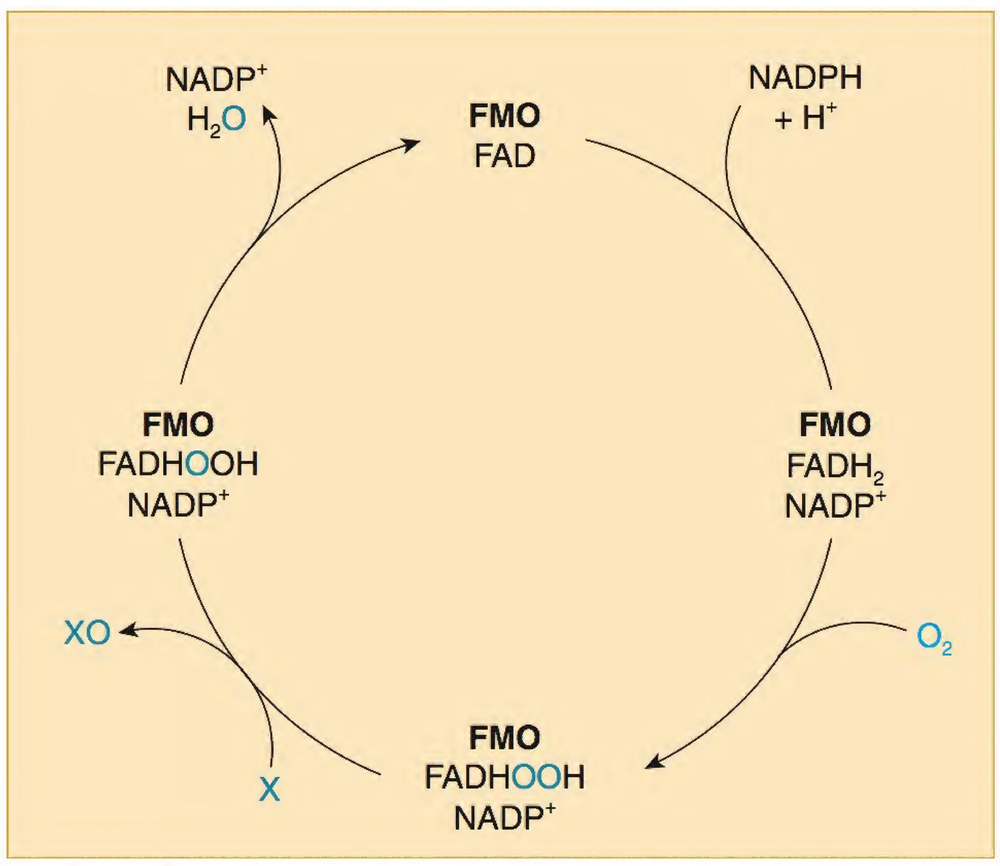


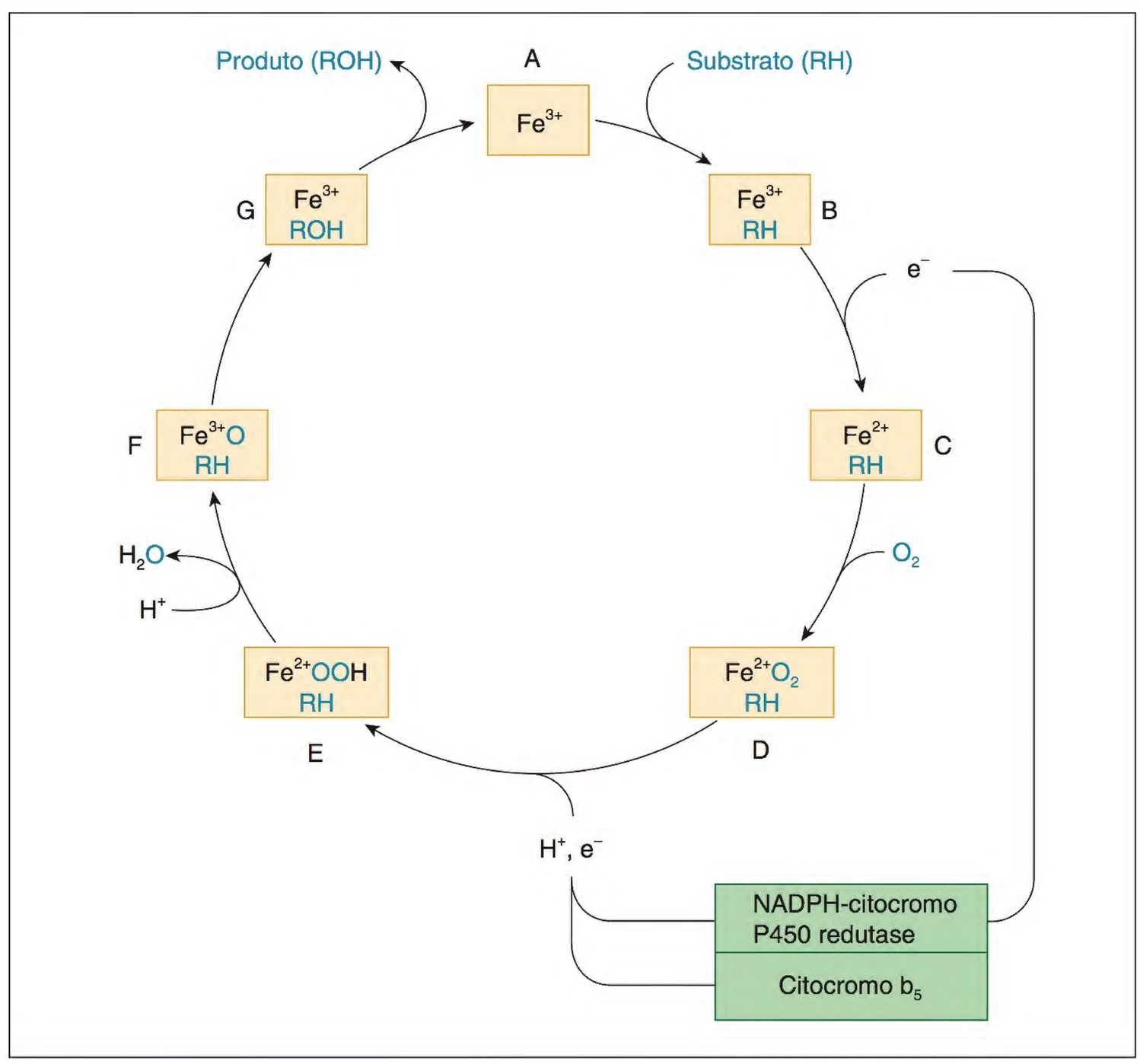
FIGURA 6.3 Ciclo catalítico da flavina monoxigenase (FMO). X e XO são o xenobiótico substrato e o produto oxigenado, respectivamente. A 4a-hidroperoxiflavina e a 4a-hidroxiflavina do FAD são descritas como FADHOOH e FADHOH, respectivamente.

localizada ao longo do cérebro e na membrana externa das mitocôndrias do fígado, dos rins, do intestino e das plaquetas sanguíneas.

O substrato é oxidado pela MAO, a qual se reduz usando a FAD. O oxigênio incorporado no substrato é derivado da água, e não do oxigênio molecular. O ciclo catalítico é completado pela reoxidação da enzima reduzida ($FADH_2 \rightarrow FAD$) pelo oxigênio, o que gera peróxido de hidrogênio.

A amina oxidase sensível a semicarbazida (AOSS) é uma enzima que contém cobre e que catalisa fundamentalmente as mesmas reações que a MAO. Ela pode ser distinguida da MAO por sua sensibilidade a inibidores e pela presença no plasma e em várias superfícies celulares, enquanto a MAO é encontrada nas mitocôndrias.

Cooxidação dependente de peroxidase A biotransformação oxidativa de xenobióticos pelas peroxidases acopla a redução do peróxido de hidrogênio e hidroperóxidos lipídicos à oxidação de outros substratos por um processo conhecido como *cooxidação*. Uma peroxidase importante é a prostaglandina H sintetase (PHS), a qual possui duas atividades catalíticas: a *ciclo-oxigenase* que converte ácido araquidônico para prostaglandinas e uma *peroxidase* que converte o hidroperóxido ao álcool correspondente PGH_2. A PSH possui duas formas (PSH1 e PSH2) que são mais conhecidas como duas formas de ciclooxigenase: COX1 e COX2. As PSH peroxidases são importantes na ativação de xenobióticos para metabólitos tóxicos ou tumorigênicos, particularmente nos tecidos extra-hepáticos, que contêm níveis baixos de citocromo P450. A oxidação de xenobióticos por peroxidases envolve



Outras reações

Redução de um elétron	**C** (Fe^{2+} RH)	⟶	**A** (Fe^{3+}) + RH $^{-}\bullet$
Produção de ânion superóxido	**D** (Fe^{2+} O_2RH)	⟶	**B** (Fe^{3+} RH) + $O_2^{-}\bullet$
Produção de peróxido de hidrogênio	**E** (Fe^{2+} OOH RH) + H^+	⟶	**B** (Fe^{3+} RH) + H_2O_2
Shunt de peróxido	**B** (Fe^{3+} RH) + XOOH	⟶	**F** $(FeO)^{3+}$ RH + XOH

FIGURA 6.4 Ciclo catalítico do citocromo P450.

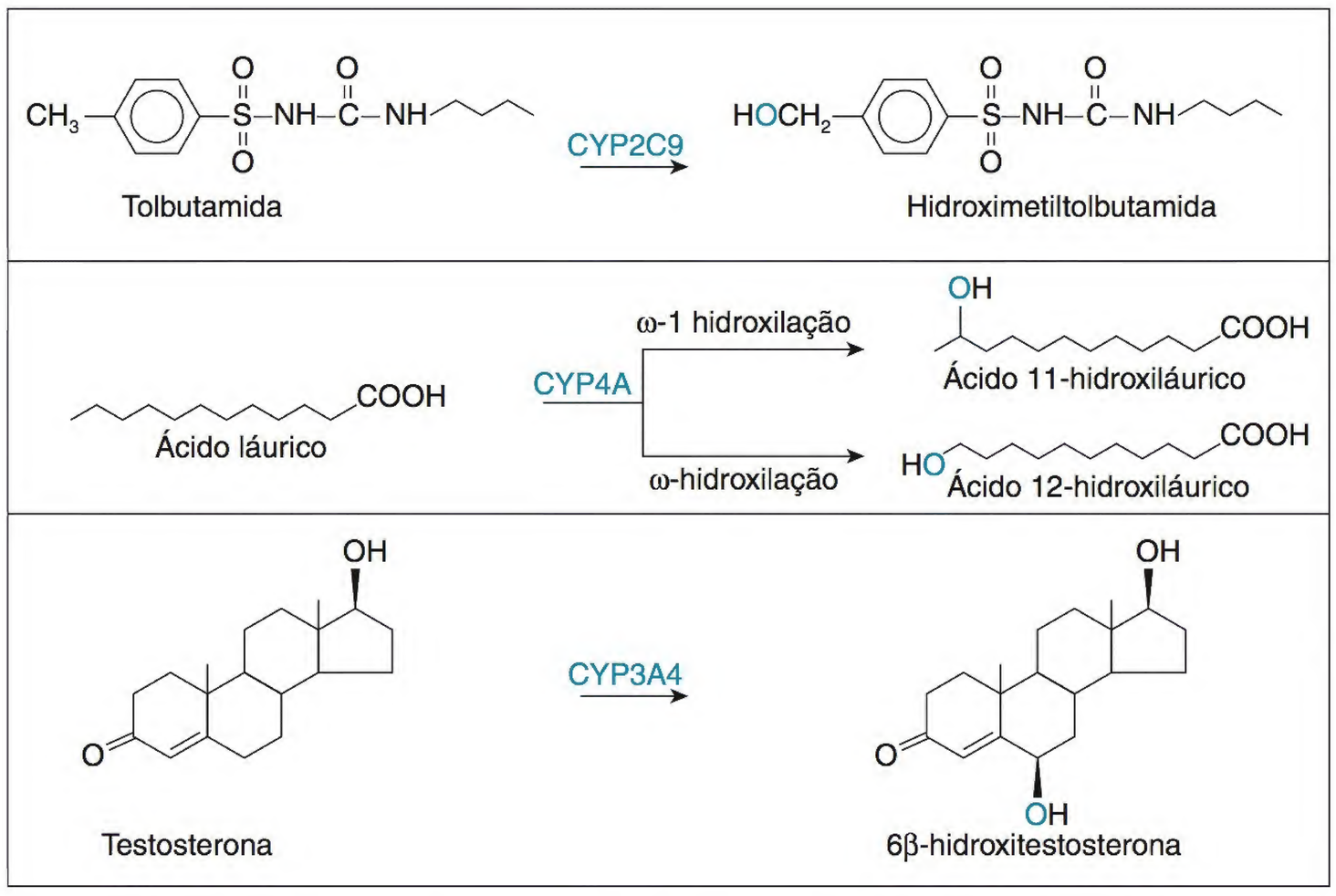


FIGURA 6.5 Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: hidroxilação de carbono alifático.

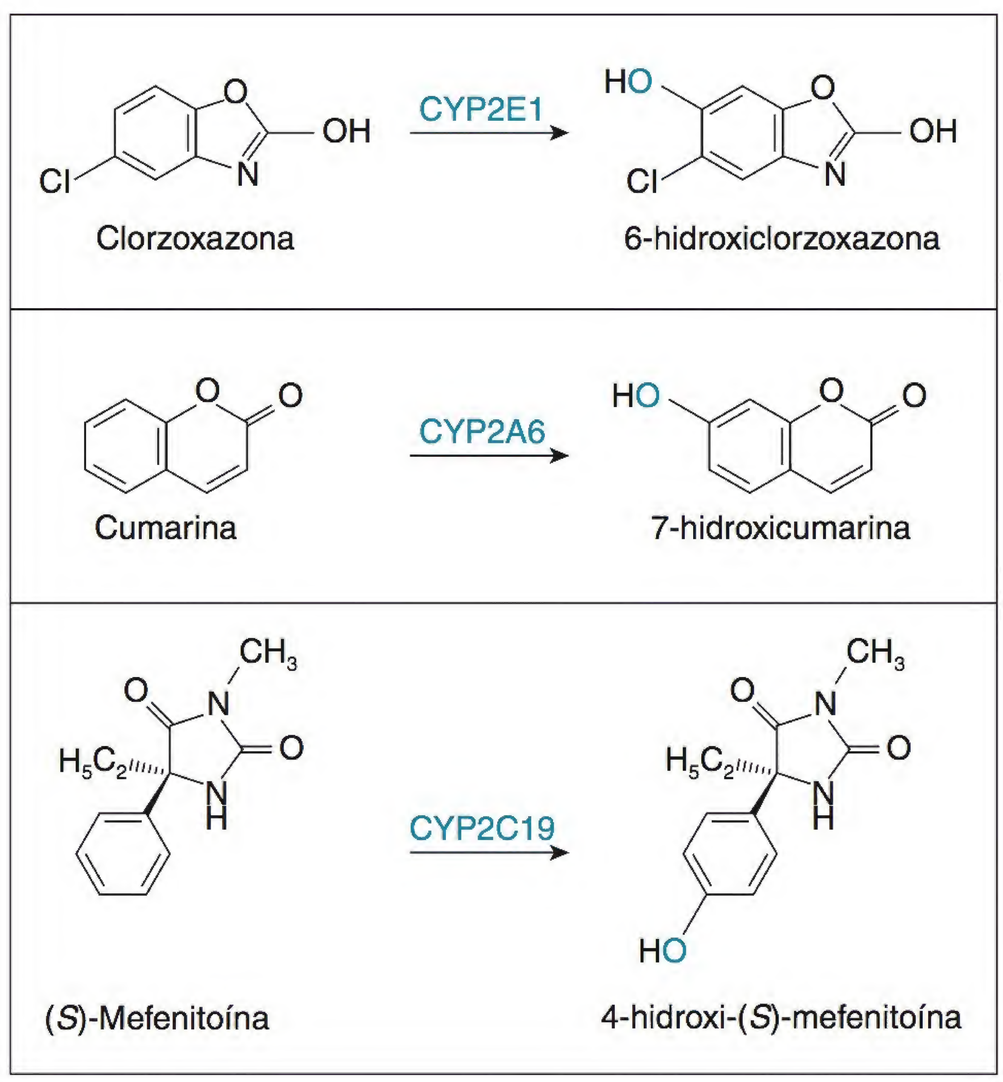


FIGURA 6.6 Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: hidroxilação de carbono aromático.

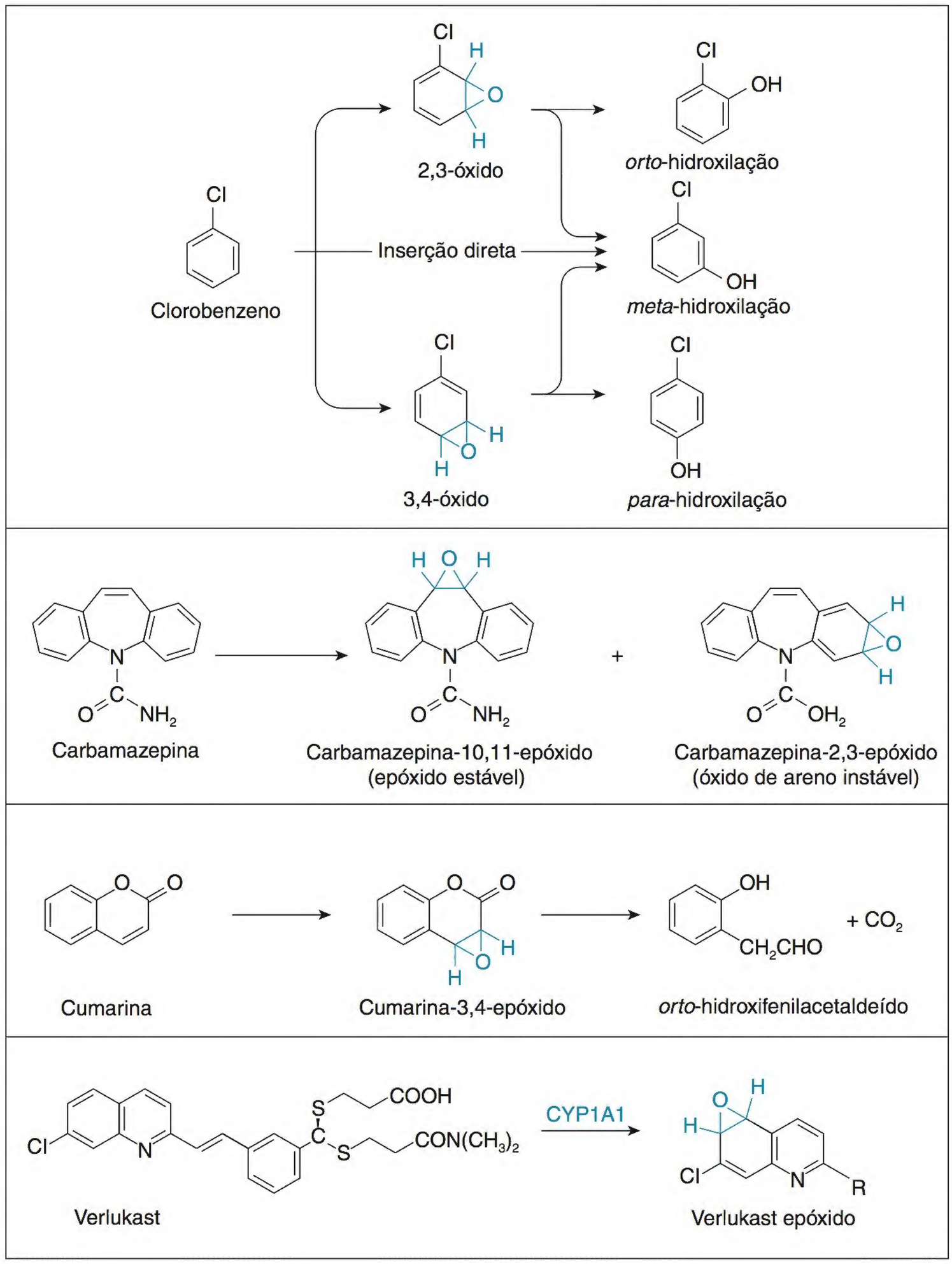


FIGURA 6.7 Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: epoxidação.

a transferência direta do oxigênio peróxido para o xenobiótico, como demonstrado na Figura 6.2 para a conversão do substrato X para o produto XO.

Os xenobióticos que servem como doadores de elétrons, tais como aminas e fenóis, também podem ser oxidados a radicais livres durante a redução de um hidroperóxido por peroxidases. Nesse caso, o hidroperóxido é, ainda, convertido ao álcool correspondente, mas o oxigênio do peróxido é reduzido a água em vez de ser incorporado ao xenobiótico. Para cada molécula do hidroperóxido reduzido (que é um processo de dois elétrons), duas moléculas do xenobiótico podem ser oxidadas (cada uma por um processo de um elétron). Muitos dos metabólitos produzidos são eletrófilos reativos que podem causar dano tecidual.

A PSH_2 pode exercer dois papéis distintos na formação de tumores: ela converte certos xenobióticos a metabólitos reativos com DNA e *inicia* a formação de tumores e pode *promover* o posterior crescimento do tumor, possivelmente pela formação de eicosanoides promotores de crescimento.

A PSH é única entre as peroxidases porque pode tanto gerar hidroperóxidos como catalisar reações dependendes de peróxidos, como demonstrado na Figura 6.2. A biotransformação de xenobióticos pela PHS é controlada pela disponibilidade de ści-

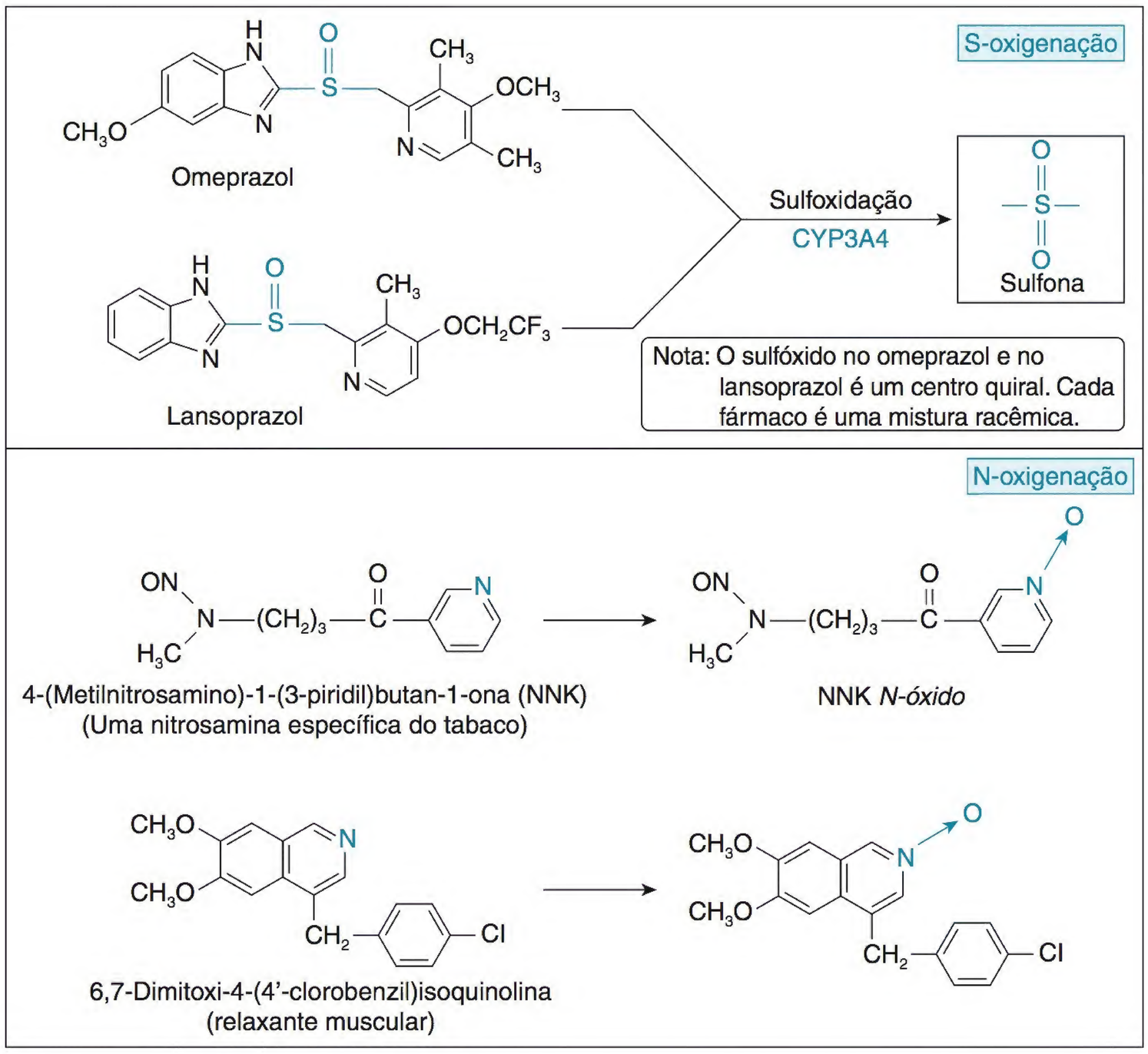


FIGURA 6.8 Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: oxigenação de heteroátomo.

do araquidônico, enquanto a conversão por outras peroxidases é controlada pela disponibilidade de substratos hidroperóxidos.

Flavina monoxigenase Fígado, rins, intestino, cérebro e pulmões contêm uma ou mais monoxigenases com FAD (FMO) que oxidam heteroátomos nucleofílicos nitrogênio, enxofre e fósforo de vários xenobióticos. A família genética da FMO mamífera inclui cinco enzimas microssomais que requerem NADPH e O_2, e muitas das reações catalisadas pela FMO também podem ser catalisadas pelo citocromo P450.

O mecanismo da catálise pela FMO está representado na Figura 6.3. Após o grupamento FAD ser reduzido para $FADH_2$ pela NADPH, o cofator oxidado $NADP^+$ permanece ligado à enzima. Então, o $FADH_2$ liga-se ao oxigênio para produzir um peróxido relativamente estável. Durante a oxigenação de xenobióticos, o oxigênio peróxido da flavina é transferido para o substrato (representada com X → XO na Figura 6.3). O passo final no ciclo catalítico envolve a restauração do FAD ao seu estado oxidado e a liberação de $NADP^+$. Esse passo final é o limitante da reação e ocorre após a oxigenação do substrato.

Citocromo P450 O sistema citocromo P450 (CYP) está em primeiro lugar em termos de versatilidade catalítica e do amplo número de xenobióticos que ele detoxifica ou ativa. A maior concentração de enzimas CYP envolvidas na biostransformação de xenobióticos é encontrada no retículo endoplasmático hepático (microssomos), mas elas estão presentes virtualmente em todos os tecidos. Todas as enzimas CYP são hemeproteínas que catalisam a monoxigenação de um átomo de oxigênio para um substrato, e o outro átomo de oxigênio é reduzido a água com equivalentes de redução derivados do NADPH.

Durante a catálise, a CYP não interage diretamente com NADPH ou NADH. No retículo endoplasmático, os elétrons são liberados do NADPH para o citocromo P450 por uma flavoproteína chamada NADPH-citocromo P450 redutase. Nas mitocôndrias, os elétrons são transferidos do NADPH para a CYP pela ferredoxina e pela ferredoxina redutase.

Existem exceções marcantes ao princípio de que o citocromo P450 requer uma segunda enzima (i. e., uma flavoproteína) para sua atividade catalítica. Uma exceção se aplica a tromboxano A sintase (CYP5A1) e prostaglandina I_2 sintase (prostaciclina sintase ou CYP8A1), as quais estão envolvidas na conversão do ácido araquidônico a eicosanoides. Em ambos os casos, o citocromo P450 funciona como uma isomerase e catalisa um rearranjo dos átomos de oxigênio introduzidos no ácido araquidônico pela ciclooxigenase. A segunda exceção envolve duas enzimas CYP expressas na bactéria *Bacillus magaterium*. Essas enzimas CYP são consideravelmente maiores do que a maioria das enzimas CYP

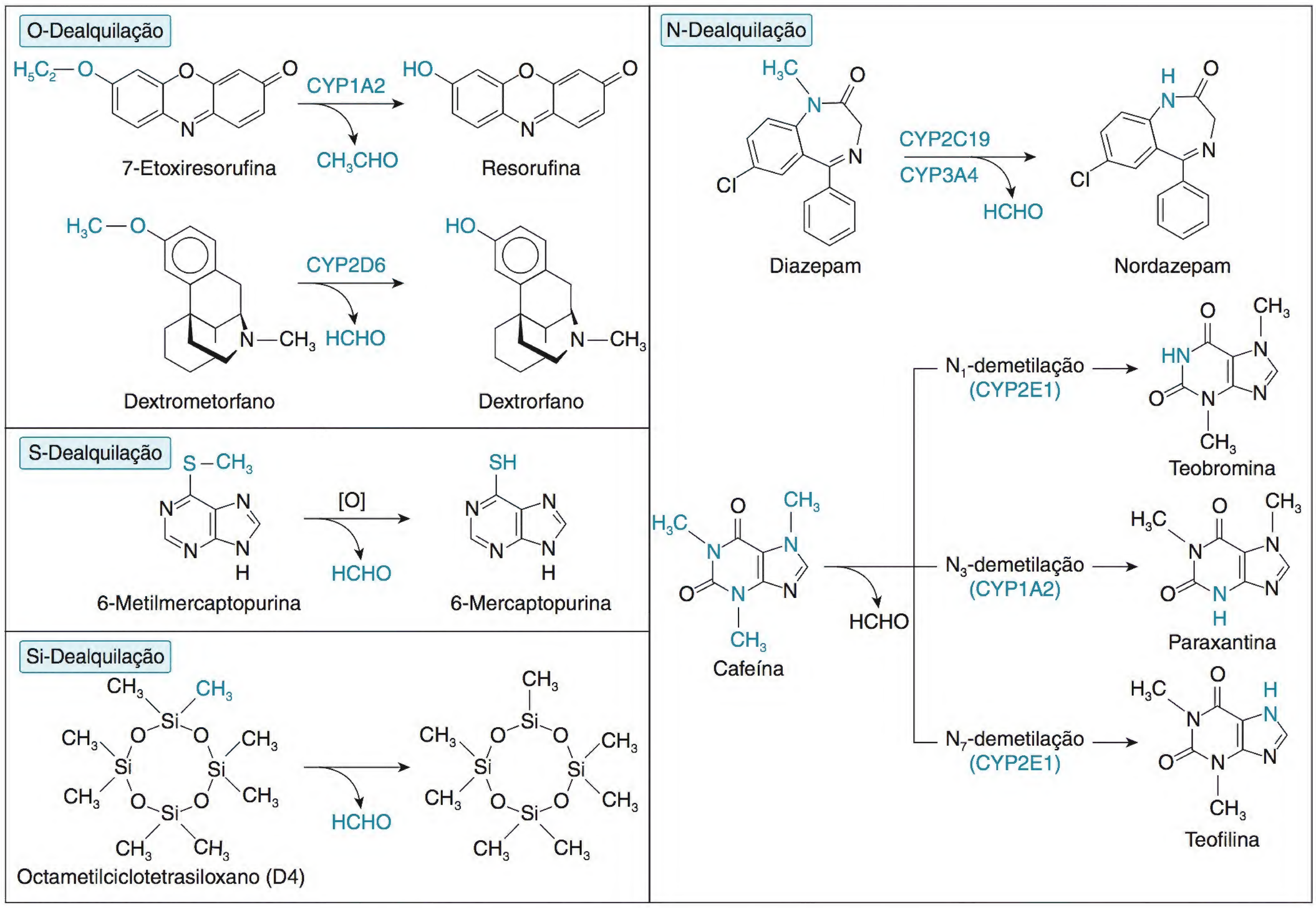


FIGURA 6.9 **Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: dealquilação de heteroátomo.**

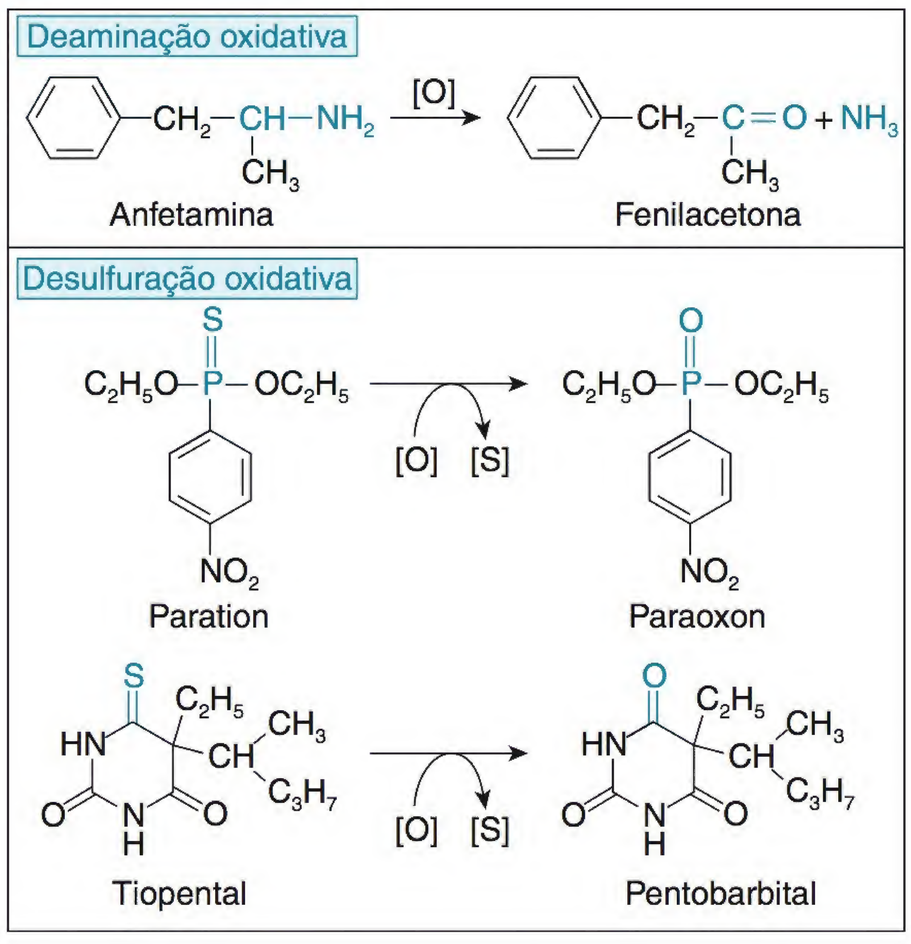


FIGURA 6.10 **Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: transferência oxidativa de grupo.**

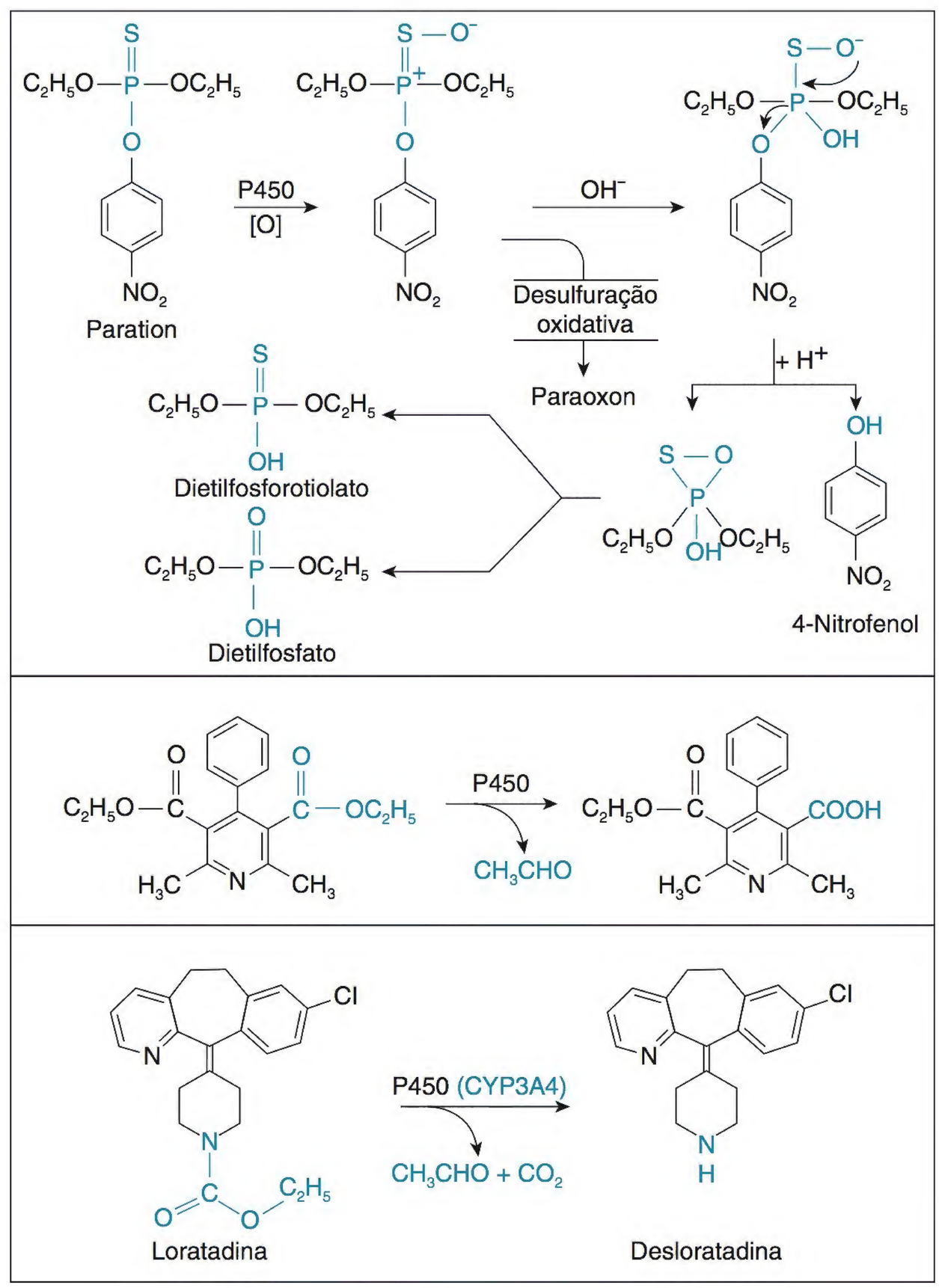


FIGURA 6.11 Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: clivagem de ésteres.

porque o grupamento P450 e a flavoproteína oxidorredutase são expressas em uma proteína única codificada por um único gene.

O citocromo P450 e a NADPH-citocromo P450 redutase estão embutidas na bicamada fosfolipídica do retículo endoplasmático, o que facilita sua interação. Como mostrado na Figura 6.4, a primeira parte do ciclo catalítico envolve a ativação do oxigênio, e a parte final envolve a oxidação do substrato, o que implica a abstração de um átomo de hidrogênio ou de um elétron do substrato seguido pela religação do oxigênio (recombinação radicalar). Seguindo a ligação do substrato à enzima CYP, o ferro do grupamento heme é reduzido do estado férrico (Fe^{+3}) para o ferroso (Fe^{+2}) pela adição de um único elétron da NADPH-citocromo P450 redutase. A liberação do substrato oxidado retorna o citocromo P450 ao seu estado inicial. Se o ciclo catalítico é interrompido, o oxigênio é liberado como um ânion superóxido (O_2^-) ou como peróxido de hidrogênio (H_2O_2).

O citocromo P450 catalisa os seguintes tipos de reações de oxidação:

1. hidroxilação de carbonos alifáticos ou aromáticos;
2. epoxidação de ligações duplas;
3. oxigenação e *N*-hidroxilação de heteroátomos (*S*-, *N*- e *I*-);
4. dealquilação de heteroátomos (*O*-, *S*-, *N*- e *Si*-);
5. transferência de grupos oxidativa;
6. clivagem de ésteres;
7. desidrogenação.

Os microssomos hepáticos de todas as espécies mamíferas contêm numerosas enzimas P450, cada uma com potencial de catalisar as várias reações apresentadas nas Figuras 6.5 a 6.12. De forma geral, as enzimas CYP são classificadas em subfamílias com base na identidade da sequência de aminoácidos.

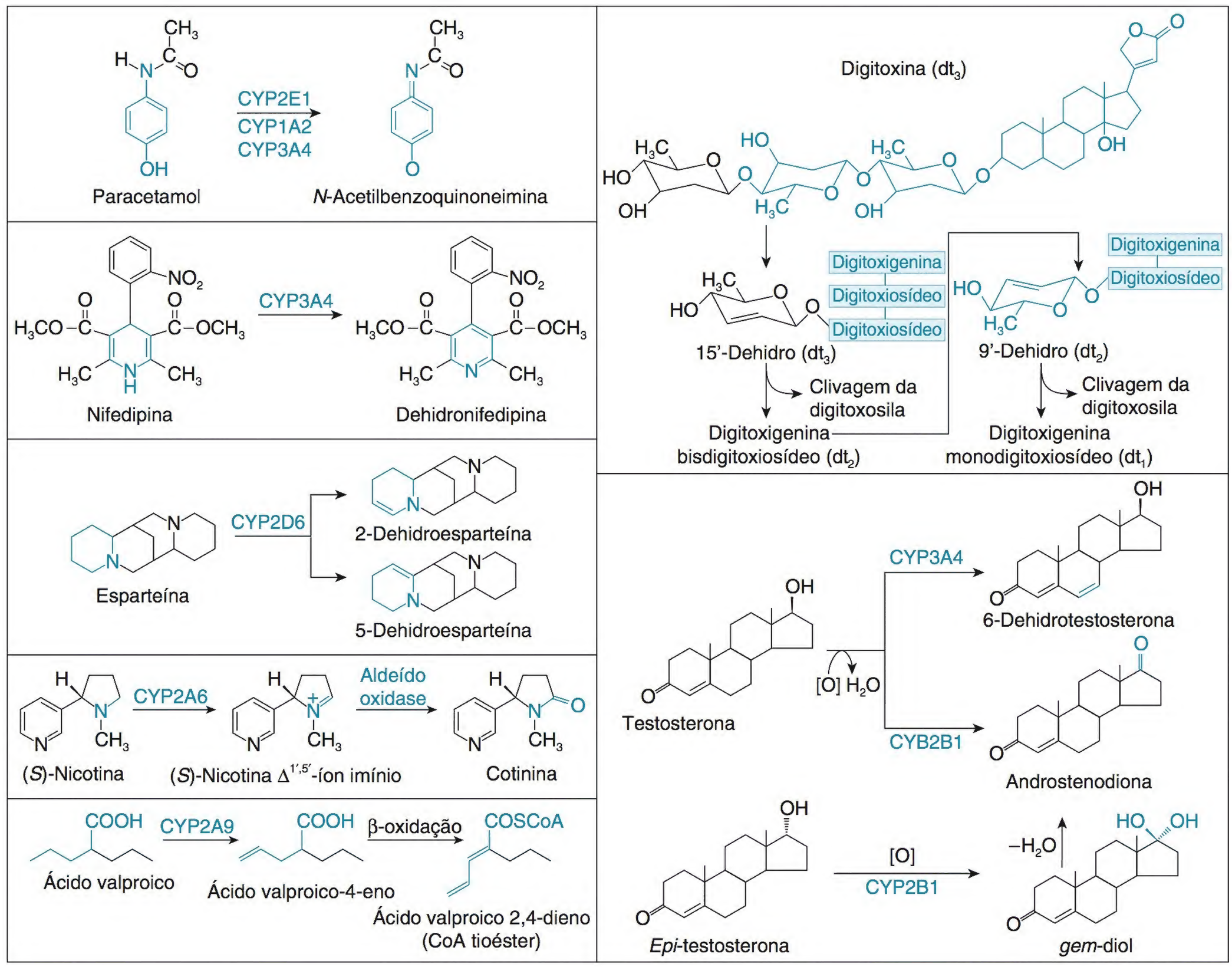


FIGURA 6.12 Exemplos de reações catalisadas pelo citocromo P450: desidrogenação.

A função e a regulação da CYP1A1, da CYP1A2, da CYP1B1, da CYP2E1, da CYP2R1, da CYP2S1, da CYP2U1 e da CYP2W1 são altamente conservadas entre espécies mamíferas, e essas proteínas têm os mesmos nomes em todas as espécies de mamíferos. Na maioria dos casos, as enzimas CYP são nomeadas de forma espécie-específica. Os níveis e a atividade de cada enzima CYP variam de um indivíduo a outro devido a fatores ambientais ou genéticos. Uma atividade reduzida de enzimas CYP pode resultar de: (1) mutação genética que bloqueia completamente a síntese de uma enzima CYP, ou leva a síntese de enzima cataliticamente comprometida, inativa ou instável, o que leva aos genótipos metabolizadores lentos e intermediários; (2) exposição a um fator ambiental (tal como uma doença infecciosa ou um processo inflamatório) que suprime a expressão da enzima CYP; ou (3) exposição a um xenobiótico que inibe ou inativa uma enzima CYP previamente existente. Ao inibir o citocromo P450, um fármaco pode prejudicar a biotransformação de outro, o que pode levar a uma resposta toxicológica ou farmacológica exagerada ao segundo fármaco. Uma atividade aumentada de enzimas CYP pode resultar de (1) duplicação gênica levando a sobre-expressão de uma enzima CYP; (2) exposição a fármacos e a outros xenobióticos que induzem a síntese do citocromo P450; ou (3) estimulação de uma enzima preexistente por um xenobiótico.

A indução do citocromo P450 por xenobióticos aumenta a atividade das enzimas CYP. Induzindo o citocromo P450, um fármaco pode estimular o metabolismo de um segundo fármaco e, dessa forma, reduzir ou atenuar seus efeitos terapêuticos. Variantes alélicas, as quais surgem por mutações pontuais no gene selvagem, são outra fonte de variação interindividual na atividade CYP. Fatores ambientais conhecidos que afetam os níveis de CYP incluem medicamentos, alimentos, hábitos sociais (p. ex., consumo de álcool e tabagismo) e presença de doenças (diabetes, inflamações, infecções bacterianas e virais, hipertireoidismo e hipotireoidismo). Quando fatores ambientais influenciam os níveis de enzimas CYP, variações consideráveis podem ser observadas durante medidas repetidas da biotransformação de xenobióticos

TABELA 6.2 Exemplos de substratos, inibidores e indutores clinicamente relevantes das principais enzimas microssomais hepáticas humanas P450 envolvidas na biotransformação de xenobióticos

	CYP1A2	CYP2A6	CYP2B6	CYP2C8	CYP2C9	CYP2C19	CYP2E1
Substratos	Alosetron Cafeína Duloxetina 7-Etoxiresorufina Fenacetina Tacrina Tizanidina Teofilina	Cumarina Nicotina	Bupropiona Efavirenz Propofol *S*-Mefenitoína Ciclofosfamida Cetamina Meperidina Nevirapina	Amodiaquina Cerivastatina Paclitaxel Rosiglitazona Repaglinida *S*-Varfarina	Diclofenaco Fluoxetina Flurbiprofeno Fenitoína Tolbutamida Pantoprazol	Fluoxetina *S*-Mefenitoína Lanzoprazol Moclobemida Omeprazol	Anilina Clorzoxazona Ácido láurico 4-Nitrofenol
Inibidores	Aciclovir Cimetidina Ciprofloxacina Famotidina Fluvoxamina Furafilina Mexiliteno α-Naftoflavona Norfloxacina Propafenona Verapamil Zileuton	Metoxsaleno Pilocarpina Tranilcipromina Triptamina	Clopidogrel 3-Isopropenil-2-metiladamantano 2-Isopropenil-2-metiladamantano Fenciclidina Sertralina Tio-TEPA Ticlopidina Feniletilpiperidina Ácido tienílico	Genfibrozila Montelukaste Quercetina Rosiglitazona Rosuvastatina Trimetoprima	Amiodarona Capecitabina Fluconazol Fluoxetina Fluvoxamina Oxandrolona Sulfafenazona Sulfimpirazona	Fluvoxamina Moclobemida Nootkatona Omeprazol Ticlopidina	Clometiazol Dialildissulfeto Dietilditiocarbamato Dissulfiram
Indutores	3-Metilcolantreno β-Naftoflavona Omeprazol Lansoprazol TCDD	Dexametasona Pirazol Rifampicina	Fenobarbital Fenitoína	Fenobarbital Rifampicina	Fenobarbital Rifampicina	Fenobarbital Rifampicina	Etanol Isoniazida

(*continua*)

TABELA 6.2 Exemplos de substratos, inibidores e indutores clinicamente relevantes das principais enzimas microssomais hepáticas humanas P450 envolvidas na biotransformação de xenobióticos (*Continuação*)

	CYP2D6		CYP3A4				
Substratos	Atomoxetina	(*R*)-Metoprolol	Alfentanil	Clopidogrel	Fentanil	Midazolam	Saquinavir
	Amitriptilina	Metilfenidato	Alfuzosina	Ciclosporina	Fluticasona	Mifepristona	Sildenafil
	Aripiprazol	Mexiletina	Alprazolam	Depsipeptídeo	Galopamil	Mosaprida	Sibutramina
	Brofaromina	Morfina	Anlodipina	Dexametasona	Gefitinibe	Nicardipina	Sinvastatina
	(±)-Bufuralol	Nortriptilina	Amprenavir	Dextrometorfano	Gepirona	Nifedipina	Sirolimo
	(*S*)-Clorfeniramina	Ondansetron	Aprepitanto	Diergotamina	Granisetron	Nimoldipina	Sunitinibe
	Clorpromazina	Paroxetina	Artemeter	α-Didroergocriptina	Gestodeno	Nisoldipina	Tacrolimo
	Clomipramina	Perexilina	Astemizol	Disopiramida	Halofantrina	Nitrendipina	Tadalafila
	Codeína	Pimozida	Atazanavir	Docetaxel	Laquinimod	Noretindrona	Telitromicina
	Debrisoquina	Propafenona	Atorvastatina	Dompedridona	Imatinibe	Oxatomida	Terfenadina
	Desipramina	(+)-Propranolol	Azitromicina	Dutasterida	Indinavir	Oxibutinina	Testosterona
	Dextrometorfano	Esparteína	Barnidipina	Ebastina	Isradipina	Perospirona	Tiagabina
	Dolasetron	Tamoxifeno	Bezaroteno	Eletriptan	Itraconazol	Pimozida	Tipranavir
	Duloxetina	Tioridazina	Bortezomibe	Eplerenona	Carinitecina	Pranidipina	Tirilazade
	Fentanil	Timolol	Brotizolam	Ergotamina	Cetamina	Praziquantel	Tofisopam
	Haloperidol (reduzido)	Tramadol	Budesonida	Erlotinibe	Levometadila	Quetiapina	Triazolam
	Imipramina	(*R*)-Venlafaxina	Buspirona	Eritromicina	Lonafarnibe	Quinidina	Trimetrexato
	Loperamida		Capravirina	Eplerenona	Lopinavir	Quinina	Vardenafila
			Carbamazepina	Etosuximida	Loperamida	Reboxetina	Vinblastina
			Cibenzolina	Etoperidona	Lumefantrina	Rifabutina	Vincristina
			Cilastazol	Everolimo	Lovastatina	Ritonavir	Vinorelbina
			Cisaprida	Etinilestradiol	Medroxiprogesterona	Rosuvastatina	Ziprasidona
			Claritromicina	Etoricoxibe	Metilprednisolona	Ruboxistaurina	Zonisamida
			Clindamicina	Felodipina	Mexazolam	Salmetrol	
Inibidores	Amiodarona	Fluoxetina	Amiodarona	Cimetidina	Fluvoxamina	Itraconazol	Saquinavir
	Bupropiona	Metadona	Amprenavir	Claritromicina	Fosamprenavir	Mibefradila	Hipérico
	Clorfeniramina	Mibefradila	Aprepitanto	Diltiazem	Gestodeno	Nefazodona	Telitromicina
	Cimetidina	Paroxetina	Atazanavir	Eritromicina	Suco de pomelo	Nelfinavir	Troleandomicina
	Clomipramina	Quinidina	Azamulina	Felbamato	Cetoconazol	Ritonavir	Verapamil
	Duloxetina	Sertralina	Bosentano	Fluconazol	Indinavir	Roxitromicina	
	Haloperidol	Terbinafina					
Indutores	ND		Amprenavir	Efavirenz	Nifedipina	Rifampicina	Troglitazona
			Avasimibe	Etoposido	Omeprazol	Rifapentina	Troleandomicina
			Bosentano	Guggulesterona	Paclitaxel	Ritonavir	Vitamina E
			Carbamazepina	Hiperforina	PCBs	Sinvastatina	Vitamina K2
			Clotrimazol	Lovastatina	Fenobarbital	Espironolactona	Yin zhi wuang
			Acetato de ciproterona	Mifepristona	Fenitoína	Sulfimpirazol	
			Dexametasona	Nelfinavir	Rifabutina	Topotecano	

(p. ex., metabolismo de fármacos) no mesmo indivíduo. Devido a sua ampla especificidade de substratos, é possível que duas ou mais enzimas CYP possam contribuir para o metabolismo de um mesmo composto.

Os efeitos farmacológicos ou tóxicos de certos fármacos são exagerados em uma porcentagem significativa da população devido a uma deficiência herdada em uma enzima CYP. Considerando que a biotransformação de um xenobiótico em humanos é frequentemente dominada por uma única enzima CYP, o esforço considerável para identificar qual ou quais enzimas CYP estão envolvidas na eliminação de um fármaco é conhecida como *fenotipagem de reação* ou *mapeamento enzimático*. Quatro abordagens para a fenotipagem de reação são:

1. *Análise de correlação:* envolve medir a taxa do metabolismo do xenobiótico por diversas amostras de microssomos hepáticos humanos e correlacionar as taxas de reação com a variação nos níveis ou na atividade das enzimas P450 individuais nas mesmas amostras microssomais.
2. *Inibição química:* avalia os efeitos de inibidores conhecidos de enzimas CYP no metabolismo de um xenobiótico pelos microssomos hepáticos humanos. Inibidores do citocromo P450 devem ser utilizados com cautela, porque a maioria deles pode inibir mais de uma enzima.
3. *Inibição por anticorpos:* determina os efeitos de anticorpos inibitórios contra enzimas CYP selecionadas na biostransformação de um xenobiótico por microssomos hepáticos humanos. Esse método, de forma isolada, pode potencialmente estabelecer qual enzima CYP humana é responsável por biotransformar um xenobiótico.
4. *Biotransformação por enzimas CYP humanas purificadas ou recombinantes:* estabelece se uma enzima CYP em particular pode ou não biotransformar um xenobiótico, mas não avalia se essa enzima contribui substancialmente para as reações catalisadas pelos microssomos hepáticos humanos.

Exemplos de substratos, inibidores e indutores para cada enzima CYP nos microssomos hepáticos humanos são dados na Tabela 6.2. Visto que a fenotipagem de reação *in vitro* não é sempre realizada com concentrações de substratos toxicologicamente relevantes, a enzima CYP que parece responsável pela biotransformação do fármaco *in vitro* pode não ser a enzima CYP responsável por biotransformar o fármaco *in vivo*.

Ativação de xenobióticos pelo citocromo P450 O papel das enzimas CYP humanas na ativação de pró-carcinógenos e pró-toxicantes e algumas reações dependentes do citocromo P450 estão resumidos na Tabela 6.3. Muitas das substâncias listadas nela são também detoxificadas pelo citocromo P450 pela conversão a metabólitos menos tóxicos. Em alguns casos, a mesma enzima CYP catalisa tanto reações de detoxificação como de ativação. A CYP3A4, por exemplo, ativa a aflatoxina B_1 para o 8,9-epóxido, que é hepatotóxico e tumorigênico, mas também detoxifica a aflatoxina B_1 por 3-hidroxilação para aflatoxina Q_1. Fatores com-

TABELA 6.3 Exemplos de xenobióticos ativados pelo citocromo P450 humano

CYP1A2	CYP2D6	CYP2E1
Paracetamol 2-Acetilaminofluoreno 4-Aminobifenila 2-Aminofluoreno 2-Naftilamina NNK Produtos de pirólise de aminoácidos (DiMeQx, MelQ, MelQx, Glu P-2, IQ, PhIP, Trp P-1, Trp P-2) Tacrina	NNK	Paracetamol Acrilonitrila Benzeno Tetracloreto de carbono Clorofórmio Diclorometano 1,2-Dicloropropano Dibrometo de etileno Dicloreto de etileno Carbamato de etila Halotano *N*-Nitrosodimetilamina Estireno Tricloroetileno Cloreto de vinila
CYP2A6 e 2A13	**CYP2F1**	**CYP4B1**
NNK e nitrosaminas em geral *N*-Nitrosodietilamina Aflatoxina B1	3-Metilindol Paracetamol Ácido valproico	Ipomeanol 3-Metilindol 2-Aminofluoreno
CYP2B6	**CYP1A1 e 1B1**	
6-Aminocriseno Ciclofosfamida Ifosfamida	Benzo[*a*]pireno e outros hidrocarbonetos aromáticos policíclicos	
CYP2C8, 9, 18, 19	**CYP3A4**	
Ácido tienílico Fenitoína Ácido valproico	Paracetamol Aflatoxina B_1 e G_1 6-Aminocriseno Benzo[α]pireno 7,8-dihidrodiol Ciclofosfamida Ifosfamida 1-Nitropireno Esterigmatocistina Senecionina Tris-(2,3-dibromopropil)-fosfato	

NNK = 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona, uma nitrosamina específica do tabaco.
Dados adaptados de Guengerich FP, Shimada T: Oxidation of toxic and carcinogenic chemicals by human cytocrome P-450 enzymes. *Chem Res Toxicol* 4:391-407, 1991.

plexos determinam o balanço entre ativação e detoxificação de xenobióticos.

Inibição do citocromo P450 Além de predizer as chances de alguns indivíduos serem metabolizadores lentos devido a uma deficiência genética na expressão do P450, a informação sobre qual enzima CYP humana metaboliza um fármaco pode ajudar a predizer ou explicar interações entre fármacos. Interações inibitórias entre fármacos geralmente se enquadram em duas categorias: inibição direta e dependente do metabolismo. A inibição direta pode ser subdividida em dois tipos. O primeiro envolve a competição entre dois fármacos que são metabolizados pela mesma enzima CYP. O segundo é também competitivo por natureza, mas o inibidor não é um substrato para a enzima CYP afetada. Inibição dependente do metabolismo ocorre quando o citocromo P450 converte um xenobiótico para um metabólito que é um inibidor mais potente, tanto reversível quanto irreversível, do que o composto original.

Indução do citocromo P450 Indutores do citocromo P450 aumentam a taxa de biotransformação dos xenobióticos. Algumas das enzimas CYP nos microssomos hepáticos humanos são indutíveis (Tab. 6.2). Como uma causa subjacente de efeitos adversos sérios, a indução do P450 reduz níveis sanguíneos, o que compromete o objetivo terapêutico da terapia medicamentosa, mas não causa uma resposta exacerbada ao fármaco.

Embora a indução do citocromo P450 possa aumentar a ativação de pró-carcinógenos para metabólitos reativos com o DNA, existem poucas evidências, tanto de estudos epidemiológicos humanos como de experimentos animais, de que a indução do P450 aumente a incidência ou a multiplicidade de tumores causados por carcinógenos químicos conhecidos. De fato, a maioria das evidências aponta para um papel protetivo da indução enzimática contra as neoplasias induzidas quimicamente. A indução do citocromo P450 pode causar tolerância farmacocinética, sendo que doses maiores de fármacos devem ser administradas para alcançar níveis sanguíneos terapêuticos devido à biotransformação aumentada do fármaco.

Camundongos nocauteados (*knockout*) P450 Camundongos transgênicos que têm falta de uma ou mais enzimas CYP podem ser usados para avaliar o papel de enzimas CYP específicas na ati-

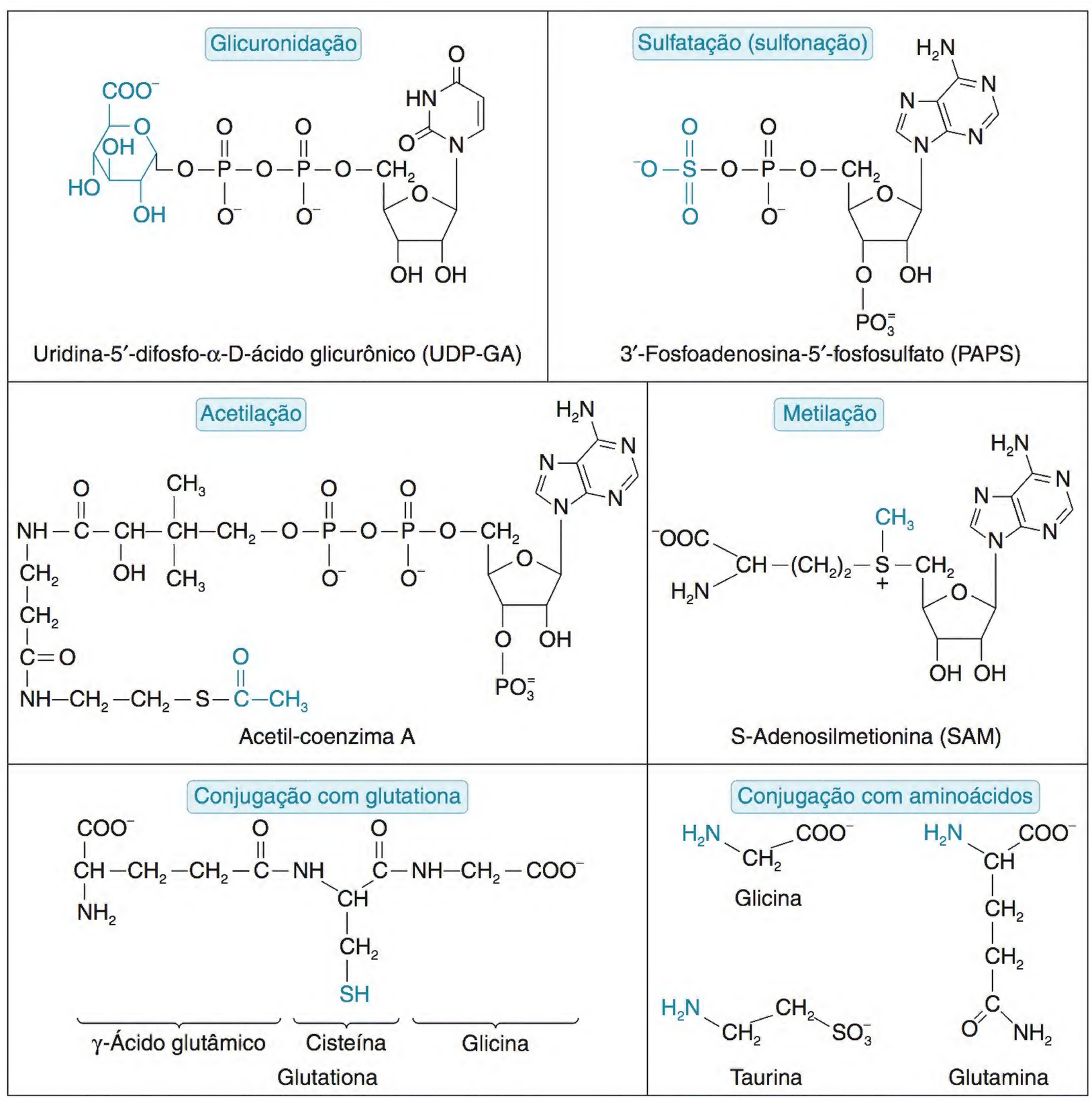


FIGURA 6.13 Estruturas dos cofatores para biotransformação de fase II. O grupo funcional que reage com o xenobiótico ou que é transferido para ele é apresentado em azul.

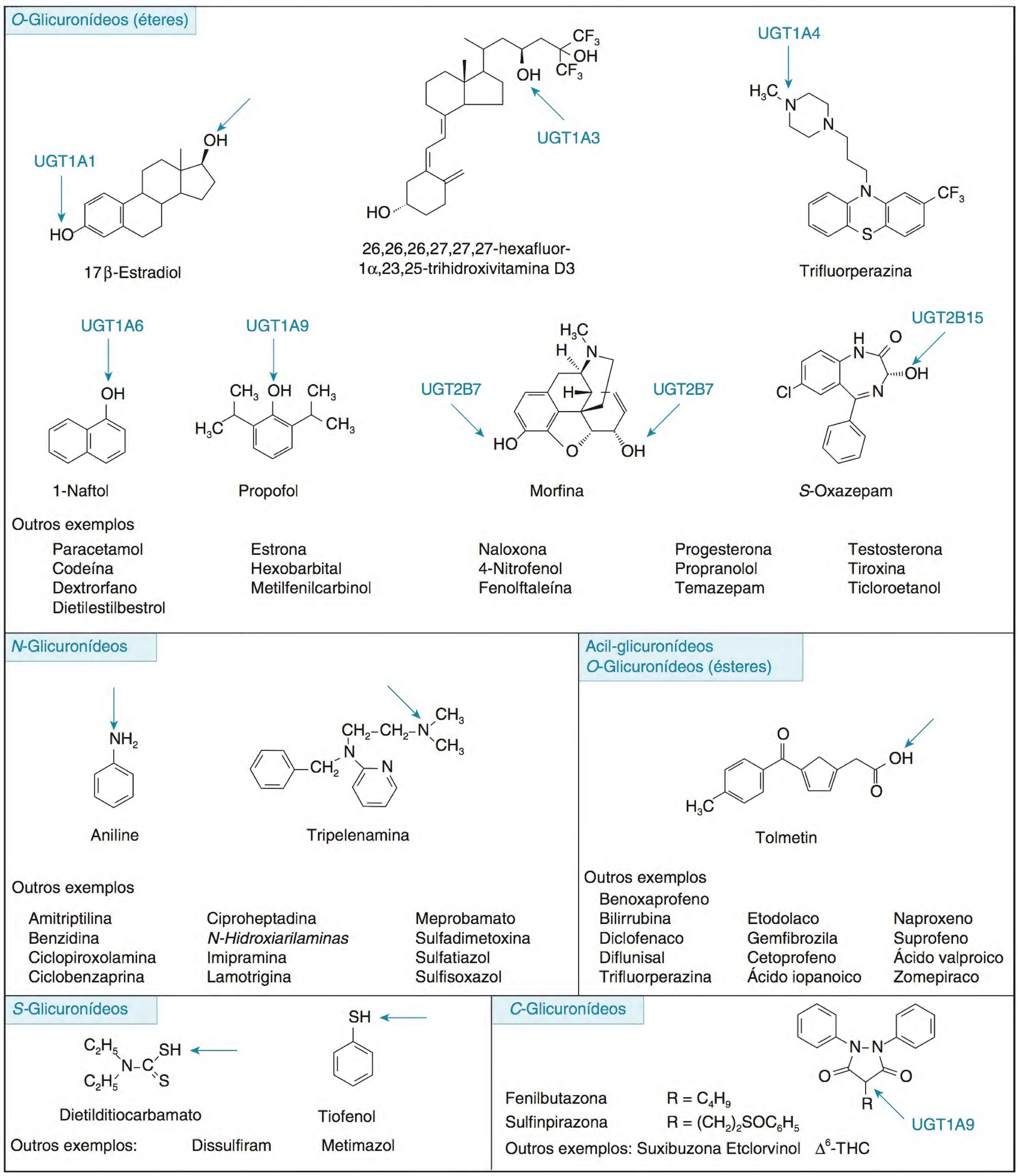


FIGURA 6.14 Exemplos de xenobióticos e substratos endógenos que são glicuronidados. A flecha indica o local da glicuronidação, com a enzima UGT se seletivas.

vação de xenobióticos. Estudos com camundongos nocauteados (*knockout*) são relevantes para humanos porque suas contrapartes podem ser encontradas naqueles indivíduos que não possuem certas enzimas CYP ou outras enzimas biotransformadoras de xenobióticos. Experimentos com camundongos nocauteados salientam como os polimorfismos genéticos na população humana são modificadores do risco para o desenvolvimento de doenças induzidas quimicamente.

CONJUGAÇÃO

As reações de conjugação incluem glicuronidação, sulfonação (mais comumente chamada de sulfatação), acetilação, metilação, conjugação com glutationa (síntese de ácido mercaptúrico) e conjugação com aminoácidos (tais como glicina, taurina e ácido glutâmico). Os cossubstratos para essas reações, os quais são apresentados na Figura 6.13, reagem com grupos funcionais que estão presentes nos xenobióticos ou que são introduzidos ou expostos durante a oxidação, a redução ou a hidrólise. Com a exceção da metilação e da acetilação, as conjugações resultam em um grande aumento na hidrofilicidade dos xenobióticos, o que facilita significativamente a excreção de substâncias químicas estranhas. Glicuronidação, sulfatação, acetilação e metilação envolvem reações com cossubstratos ativados ou de "alta energia", enquanto a conjugação com aminoácidos ou com a glutationa envolve reações com xenobióticos ativados. Com exceção das glicuronosiltransferases, a maior parte das enzimas de conjugação está localizada principalmente no citosol (Tab. 6.1).

Glicuronidação

A glicuronidação requer o cossubstrato uridina difosfato-ácido glicurônico (UDP-ácido glicurônico), e a reação é catalisada pelas UDP-glicuronosiltransferases (UGTs). Exemplos de xenobióticos glicuronidados são apresentados na Figura 6.14. O local da glicuronidação é, geralmente, um heteroátomo nucleófilo rico em elétrons (O, N ou S), como os encontrados em álcoois alifáticos e fenóis, ácidos carboxílicos, aminas alifáticas e aromáticas primárias e secundárias e grupamentos sulfidrila livres. Substratos endógenos para a glicuronidação incluem bilirrubina, hormônios esteroides e hormônios da tireoide.

Conjugados glicuronídeos de xenobióticos e de compostos endógenos são metabólitos polares e solúveis em água. Os glicuronídeos são excretados do corpo na bile ou na urina dependendo do tamanho da aglicona (composto original ou metabólito não conjugado). O grupamento ácido carboxílico do ácido glicurônico, que está ionizado no pH fisiológico, promove a excreção porque (1) aumenta a solubilidade em água do xenobiótico e (2) é reconhecido pelos sistemas de transporte de ânions orgânicos renal e biliar, o que permite que os glicuronídeos sejam secretados para a urina e para a bile. Os glicuronídeos de xenobióticos são substratos para a β-glicuronidase presentes na microflora intestinal. A enzima intestinal pode liberar a aglicona, a qual sofre circulação entero-hepática, retardando a eliminação do xenobiótico.

A disponibilidade de cofatores pode limitar a taxa de glicuronidação de fármacos que são administrados em doses elevadas e amplamente conjugados, tais como o ácido acetilsalicílico e o paracetamol.

TABELA 6.4 Exemplos de xenobióticos e compostos endógenos que sofrem conjugação com sulfato

Grupo funcional	Exemplo
Álcool primário	Cloranfenicol, etanol, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos hidrometilados, polietilenoglicóis
Álcool secundário	Ácidos biliares, 2-butanol, colesterol, dehidroepiandrosterona, doxaminol
Fenol	Paracetamol, estrona, etinilestradiol, naftol, pentaclorofenol, fenol, picenadol, salicilamida, trimetrexato
Catecol	Dopamina, ácido elégico, α-metil-DOPA
N-Óxido	Minoxidil
Amina alifática	2-Amino-3,8-dimetilimidazol[4,5,-f]-quinoxalina (MelQx)[1]
	2-Amino-3-metilinidazo-[4,5,f-]-quinolina (IQ)[1]
	2-Cianoetil-*N*-hidroxitioacetamida, desipramina
Amina aromática	2-Aminonaftaleno, anilina
Hidroxilamina aromática	*N*-hidroxi-2-aminonaftaleno
Hidroxiamida aromática	*N*-hidroxi-2-acetilaminofluoreno

[1] Produtos de pirólise de aminoácidos

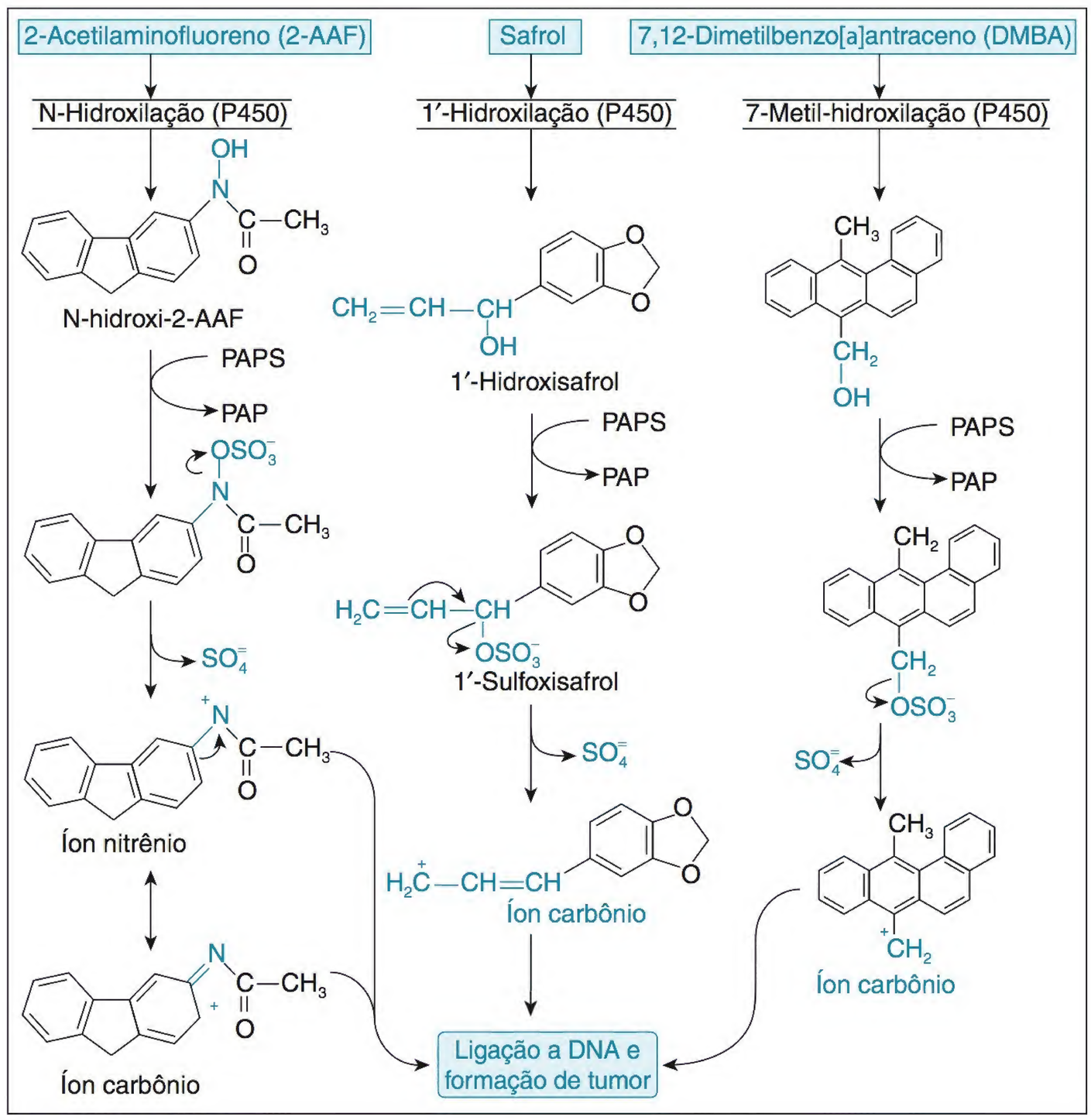


FIGURA 6.15 Papel da sulfatação na geração de metabólitos tumorigênicos (íons nitrênio ou carbônio) de 2-acetilaminofluoreno, safrol e 7,12-dimetilbenzo[*a*]antraceno (DMBA).

As UGTs expressas em microssomos hepáticos de ratos pertencem a duas famílias de genes, UGT1 e UGT2, cada uma contendo diversas subfamílias com muitos membros similares. Membros da família de genes 2 são compostos de seis éxons que não são compartilhados entre os membros, com exceção da UGT2A2 e UGT2A1. Em contraste, membros da família 1 são formados a partir de um único gene com cópias múltiplas do primeiro éxon, cada cópia podendo ser conectada em forma de cassete com um conjunto comum de éxons.

Sulfonação

Muitos xenobióticos e substratos endógenos sofrem sulfonação. A conjugação com sulfato é catalisada por sulfotransferases, uma família de enzimas multigênica que geralmente produz ésteres com ácido sulfúrico de elevada solubilidade em água. O cossubstrato para a reação é a 3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS; ver Fig. 6.13).

A conjugação de sulfato envolve a tranferência de sulfonato, não sulfato (i. e., SO_3^-, não SO_4^-) da PAPS para o xenobiótico. (Os termos normalmente utilizados *sulfatação* e *conjugação de sulfato* são utilizados aqui, mesmo que *sulfonação* e *conjugação de sulfonato* sejam descritores mais apropriados.) A Tabela 6.4 lista exemplos de xenobióticos e compostos endógenos que são sulfonados sem biotransformação prévia por enzimas oxidativas. Um número ainda maior de xenobióticos é sulfatado após um grupo hidroxila ser exposto ou introduzido durante a biotransformação oxidativa ou hidrolítica.

Os conjugados sulfatados de xenobióticos são excretados sobretudo na urina. Sulfatases presentes no retículo endoplasmático e nos lisossomos hidrolisam primariamente os sulfatos de compostos endógenos. Alguns conjugados com sulfato são substratos para biotransformações posteriores.

A PAPS é sintetizada a partir do sulfato inorgânico (SO_4^{2-}) e de ATP em uma reação de duas etapas. A fonte principal de sulfato necessário para a síntese da PAPS parece ser derivada da cisteína por meio de uma complexa sequência de oxidação. A baixa concentração celular de PAPS (~75 μM vs. ~350 μM de UDP-ácido glicurônico e ~ 10 mM de glutationa) limita a capacidade para sulfonação de xenobióticos.

Múltiplas sulfotransferases foram identificadas em todas as espécies de mamíferos investigadas. Existem duas classes principais de enzimas: enzimas ligadas à membrana, que são encontradas no complexo de Golgi, e enzimas solúveis, que estão localizadas no citoplasma. As sulfotransferases estão distribuídas em famílias gênicas (SULT1 a SULT5) que compartilham, pelo

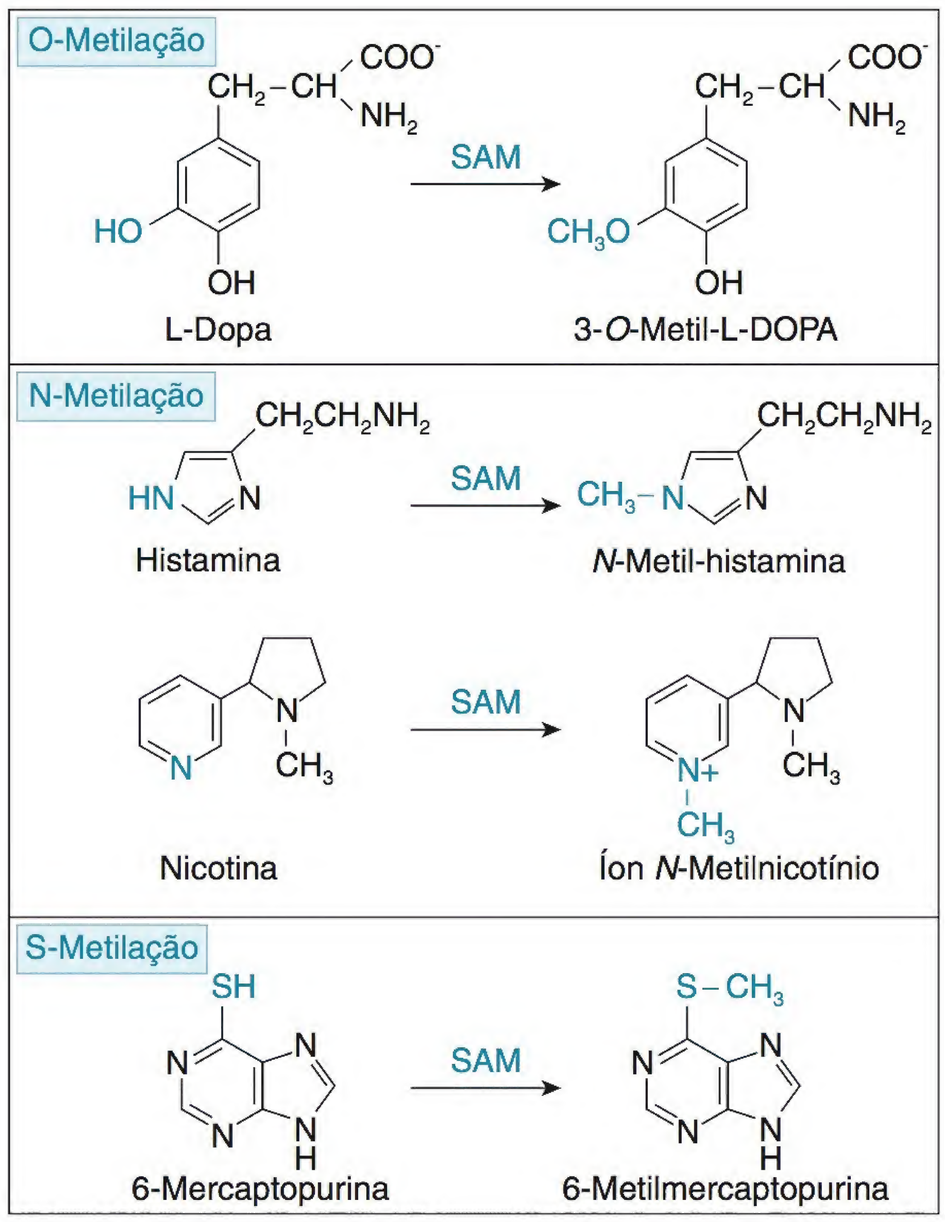


FIGURA 6.16 Exemplos de compostos que sofrem *O*-, *N*- ou *S*-metilação.

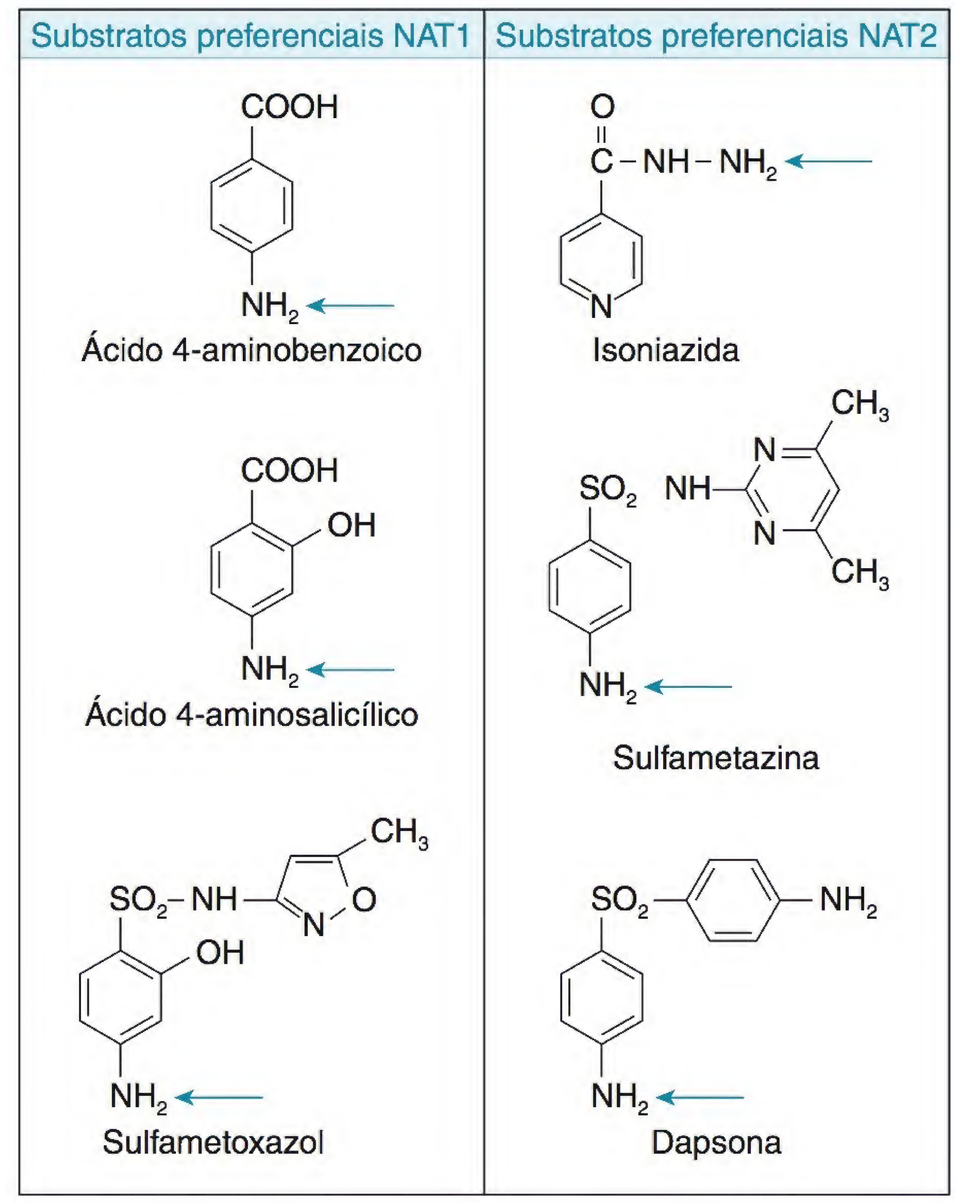


FIGURA 6.17 Exemplos de substratos para *N*-acetiltransferases humanas, NAT1 e, a altamente polimórfica, NAT2.

menos, 45% da sequência de aminoácidos e são, ainda, subdivididas em diversas subfamílias. Cada família parece trabalhar em um grupo funcional específico (i.e., fenóis, álcoois e aminas).

De forma geral, a sulfonação é uma forma efetiva de diminuição da atividade farmacológica e toxicológica dos xenobióticos. Entretanto, como demonstrado na Figura 6.15, a sulfonação tem um papel na ativação de aminas aromáticas, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos metil-substituídos e safrol a metabólitos tumorigênicos.

Metilação

A metilação, uma via minoritária de biotransformação, geralmente diminui a solubilidade em água dos xenobióticos e mascara grupos funcionais que, de outra forma, poderiam ser conjugados por outras enzimas. A metilação também pode levar a uma toxicidade aumentada. O cossubstrato para a metilação é a *S*-adenosilmetionina (SAM) (Fig. 6.13). O grupo metila ligado ao íon sulfônio na SAM é transferido aos xenobióticos e aos substratos endógenos por ataque nucleofílico de um heteroátomo rico em elétrons (*O*, *N* ou *S*) liberando *S*-adenosil-homocisteína. Exemplos de xenobióticos e substratos endógenos que sofrem *O*-, *N*- ou *S*-metilação são apresentados na Figura 6.16.

A *O*-metilação de fenóis e catecóis é catalisada por duas enzimas diferentes, conhecidas como fenol *O*-metiltransferase (FOMT) nos microssomos e catecol-*O*-metiltransferase (COMT) no citosol e nos microssomos. Em ratos e humanos, a COMT é codificada por um único gene com dois diferentes sítios promotores e iniciadores de transcrição. A transcrição em um sítio produz a forma citosólica da COMT, enquanto a transcrição a partir do outro sítio, uma forma ligada a membranas por meio da adição de um segmento de 50 aminoácidos que direciona a COMT ao retículo endoplasmático. Os substratos da COMT incluem diversos neurotransmissores catecolaminas e fármacos catecóis, tais como L e metildopa.

Diversas *N*-metiltransferases foram descritas em humanos e em outros mamíferos. A feniletanolamina *N*-metiltransferase catalisa a *N*-metilação do neurotransmissor noradrenalina para formar adrenalina na medula adrenal e em certas regiões do cérebro e possui significância mínima na biotransformação de xenobióticos. Entretanto, a histamina e a nicotina *N*-metiltransferases expressas no fígado, no intestino e/ou nos rins metilam xenobióticos.

A *S*-metilação é uma via importante na biotransformação de xenobióticos contendo sulfidrila. Em humanos, a *S*-metilação é catalisada pela tiopurina metiltransferase no citosol e por tiol metiltransferase em microssomos.

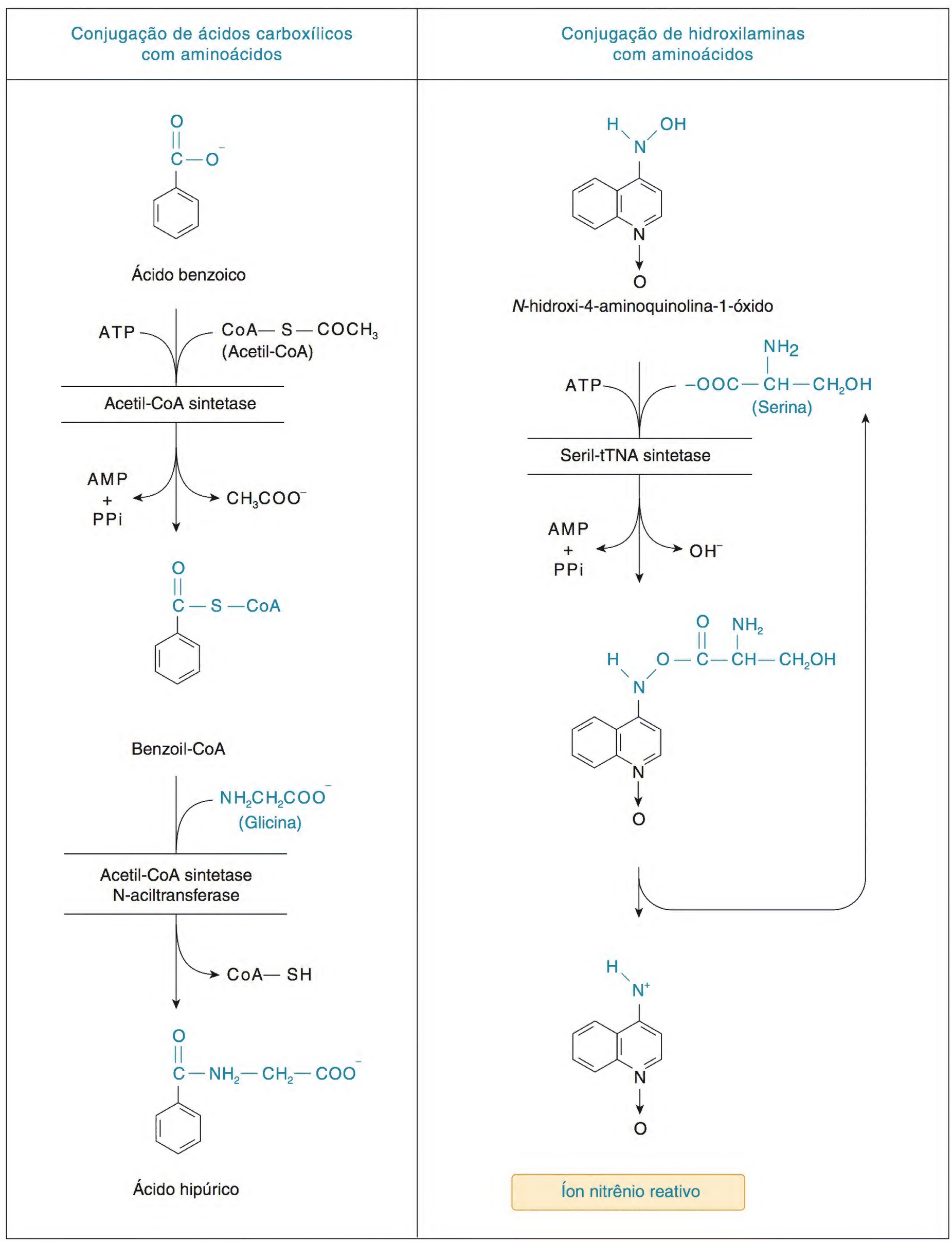


FIGURA 6.18 **Conjugação de xenobióticos com aminoácidos.**

Acetilação

A *N*-acetilação é uma rota principal de biotransformação de xenobióticos contendo uma amina aromática ($R–NH_2$) ou um grupamento hidrazina ($R–NH–NH_2$), os quais são convertidos para amidas aromáticas ($R–NH–COCH_3$) e hidrazidas ($R–NH–NH–COCH_3$), respectivamente. A *N*-acetilação mascara uma amina com um grupo não ionizável, de forma que muitos metabólitos *N*-acetilados são menos solúveis em água do que os compostos originais. De qualquer forma, a *N*-acetilação de certos xenobióticos, tais como a isoniazida, facilita sua excreção urinária.

A *N*-acetilação de xenobióticos catalisada pelas *N*-acetiltransferases citosólicas requerem o cossubstrato acetil-coenzima A (acetil-CoA; Fig. 6.13). A reação de duas etapas envolve: (1) transferência do grupo acetila da acetil-CoA para um resíduo de cisteína em um sítio ativado da enzima com a liberação da coenzima A e (2) a transferência subsequente do grupo acetila da enzima acetilada para o grupo amino do substrato, com a regeneração da enzima.

NAT1 e NAT2, as duas acetiltransferases existentes em humanos, são de 79 a 95% idênticas em sua sequência de aminoácidos com um sítio ativo com resíduo de cisteína na região *N*-terminal. Embora codificadas por genes no mesmo cromossomo, a NAT1 é expressa na maioria dos tecidos do corpo, enquanto a NAT2 é expressa principalmente no fígado e no intestino. A maioria (mas não todos) dos tecidos que expressam NAT1 também apresentam níveis baixos de NAT2, pelo menos no nível do mRNA. A NAT1 e a NAT2 também apresentam especificidades de substrato diferentes, mas que se sobrepõem. Exemplos de fármacos que são *N*-acetilados pela NAT1 e NAT2 são apresentados na Figura 6.17.

Polimorfismos genéticos da *N*-acetilação foram documentados em humanos, *hamsters*, coelhos e camundongos. Polimorfismos na NAT2 apresentam diversas consequências farmacológicas e toxicológicas: acetiladores lentos NAT2 são predispostos a toxicidade por fármacos, incluindo hipotensão excessiva pela hidralazina, neuropatia periférica pela isoniazida e dapsona, lúpus eritematoso sistêmico pela hidralazina e procainamida e efeitos tóxicos da coadministração do anticonvulsivante fenitoína com isoniazida.

As *N*-acetiltransferases detoxificam aminas aromáticas convertendo-as para as amidas correspondentes, que são menos propensas a serem ativadas a metabólitos reativos com o DNA. Entretanto, *N*-acetiltransferases podem ativar aminas aromáticas se elas forem primeiro *N*-hidroxiladas pelo citocromo P450. Os ésteres acetoxi das aminas *N*-hidroxiaromáticas, tais como os correspondentes ésteres sulfonatos (Fig. 6.15), podem fragmentar-se para formar íons nitrênio e carbônio altamente reativos que se

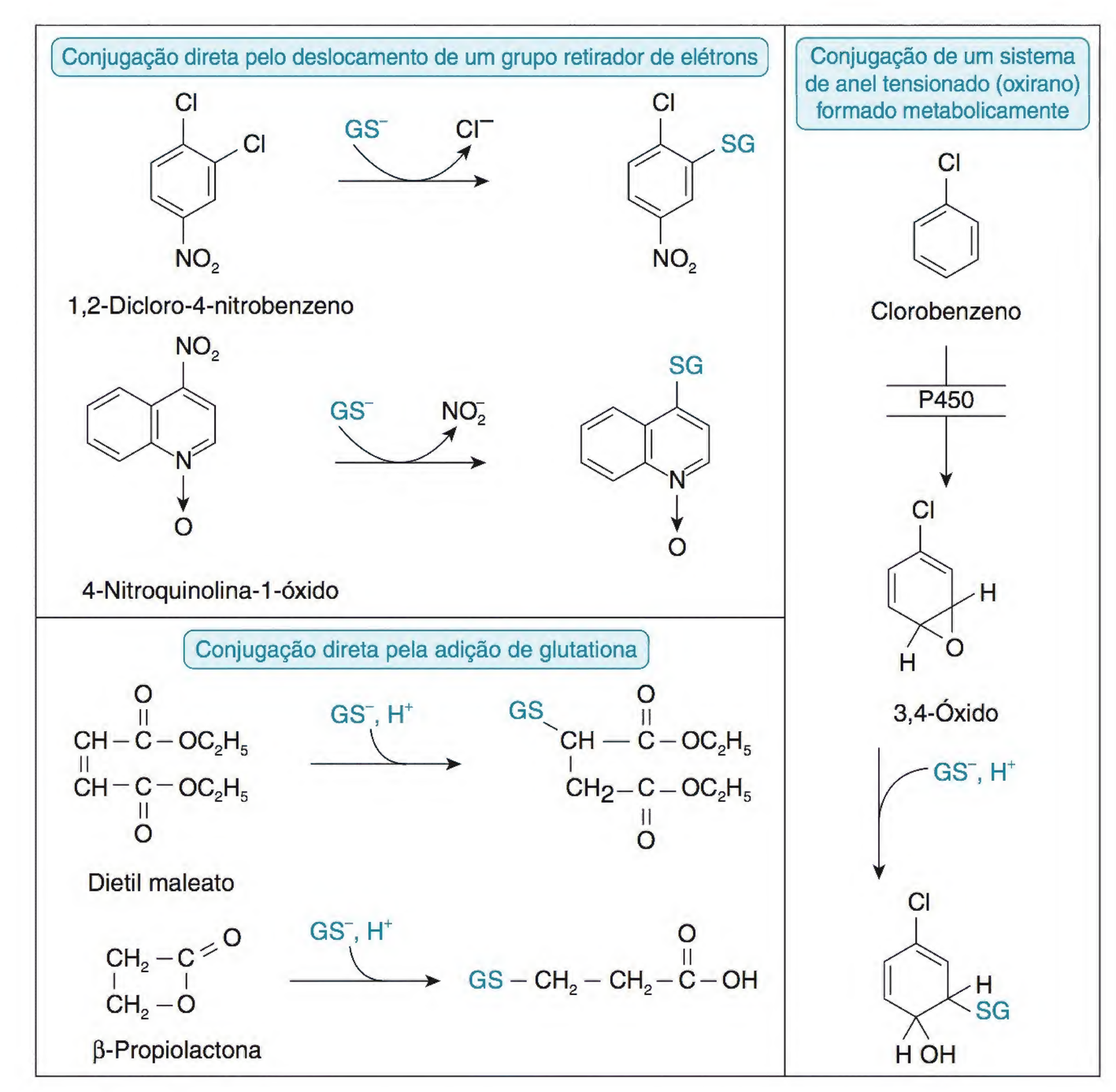


FIGURA 6.19 Exemplos de conjugação com glutationa de xenobióticos com um carbono eletrofílico. GS^- representa a forma aniônica da glutationa.

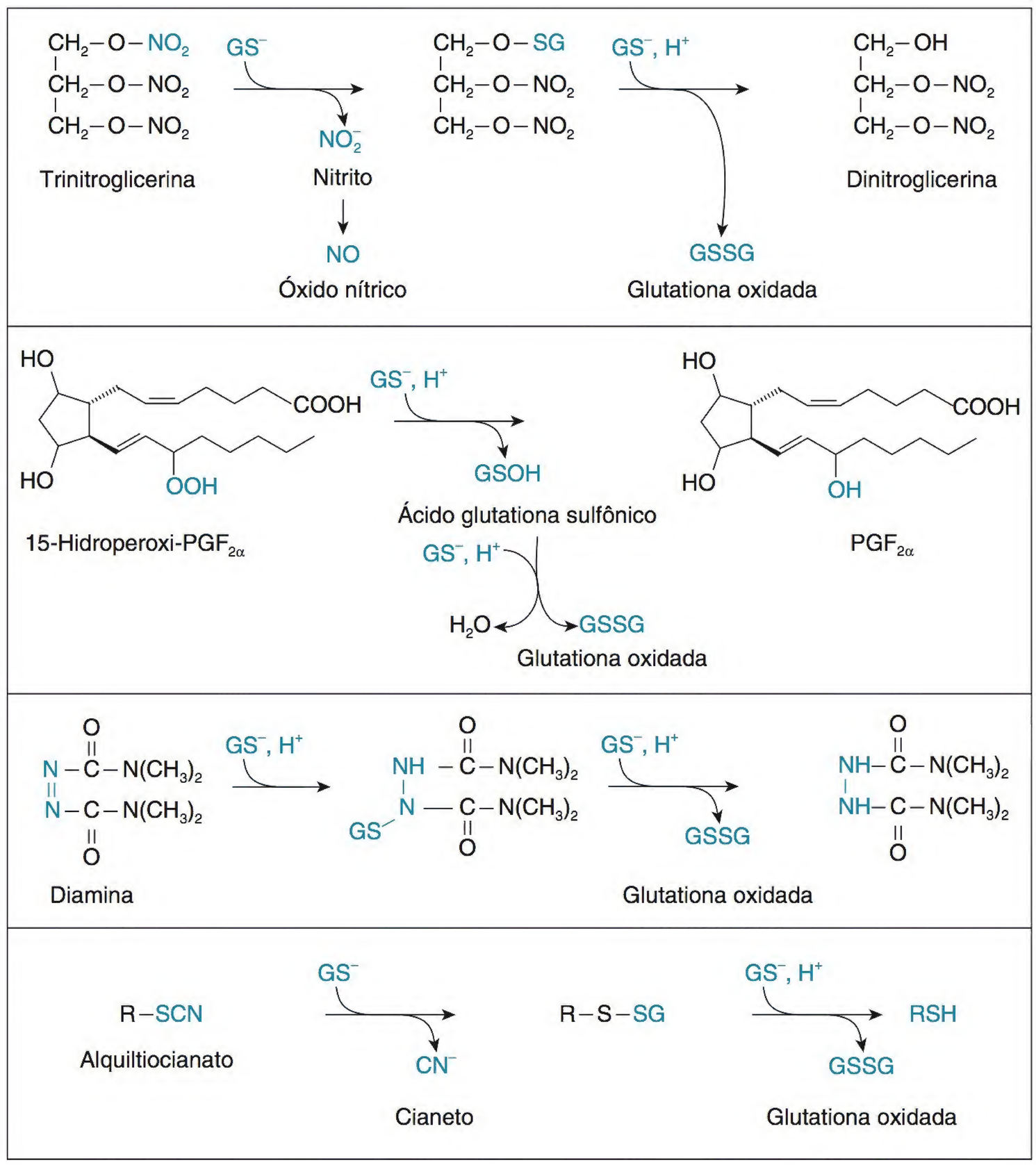


FIGURA 6.20 Exemplos de conjugação com glutationa de heteroátomos eletrofílicos.

ligam ao DNA. O quanto os acetiladores rápidos estão protegidos ou predispostos aos efeitos causadores de câncer das aminas aromáticas depende da natureza da amina aromática e de outros modificadores de risco.

Conjugação com aminoácidos

As duas principais vias pelas quais os xenobióticos são conjugados com aminoácidos são ilustradas na Figura 6.18. A primeira envolve a conjugação dos xenobióticos contendo um grupo ácido carboxílico com o grupo amino de aminoácidos como glicina, glutamina e taurina (ver a Fig. 6.13). Após a ativação do xenobiótico pela conjugação com CoA, o tioéter acil-CoA reage com o *grupo amino* de um aminoácido para formar uma ligação amida. A segunda via envolve a conjugação de xenobióticos contendo uma hidroxilamina aromática com o *grupo ácido carboxílico* de aminoácidos tais como a serina e a prolina. Essa via envolve a ativação de um aminoácido pela aminoacil-tRNA sintetase, a qual reage com uma hidroxilamina para formar um *N*-éster reativo.

Os substratos para conjugação com aminoácidos são restritos a ácidos alifáticos, aromáticos, heteroaromáticos, cinâmicos e arilacéticos. A capacidade dos xenobióticos de sofrerem conjugação com aminoácidos depende do impedimento estérico em torno do grupo ácido carboxílico e pelos substituintes no anel aromático ou na cadeia lateral alifática. Os conjugados de xenobióticos com aminoácidos são eliminados principalmente na urina. O aminoácido aceptor usado para conjugação é tanto dependente da espécie como do xenobiótico.

A conjugação com aminoácidos de aminas *N*-hidroxi-aromáticas (hidroxilaminas) é uma reação de ativação que produz *N*-ésteres, os quais podem degradar-se formando íons eletrofílicos nitrênio e carbônio. A conjugação das hidroxilaminas com aminoácidos é catalisada por aminoacil-tRNA sintetases citosólicas e requer ATP (Fig. 6.18).

Conjugação com glutationa

A conjugação de xenobióticos com glutationa inclui uma enorme gama de xenobióticos eletrofílicos ou xenobióticos que podem ser biotransformados para eletrófilos. O tripeptídeo glutationa consiste em glicina, cisteína e ácido glutâmico (Fig. 6.13). Os conjugados de glutationa são tioéteres, os quais são formados pelo ataque nucleofílico do ânion glutationa tiolato (GS^-) a um átomo eletrofílico de carbono, oxigênio, nitrogênio ou enxofre no xenobiótico. Essa reação de conjugação é catalisada por uma família de glutationa *S*-transferases que estão presentes na maioria dos tecidos, localizadas no citoplasma (> 95%) e no retículo endoplasmático (< 5%).

Os substratos para a glutationa *S*-transferase são normalmente hidrofóbicos, contêm um átomo eletrofílico e reagem de forma não enzimática com a glutationa em uma extensão mensurável. O mecanismo pelo qual a glutationa *S*-transferase aumenta a taxa de conjugação da glutationa envolve a desprotonação da GSH para GS^-. A concentração de glutationa no fígado é extremamente alta (~5 a 10 mM); assim, a conjugação não enzimática de certos xenobióticos com a glutationa pode ser relevante. Entretanto, alguns xenobióticos são conjugados com a glutationa de forma estereosseletiva, indicando que a reação é amplamente catalisada pela glutationa *S*-transferase. Assim como a glutationa, as glutationas S-transferases são, elas próprias, componentes celulares abundantes, respondendo por até 10% da proteína celular total. Essas enzimas ligam, armazenam e/ou transportam um número de compostos que não são substratos para conjugação com glutationa. A proteína citoplasmática anteriormente conhecida como ligandina, que se liga a heme, bilirrubina, esteroides, azocorantes, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e hormônios da tireoide, é uma GST da classe alfa.

Como apresentado na Figura 6.19, os substratos para conjugação com glutationa podem ser divididos em dois grupos: aqueles suficientemente eletrofílicos para serem conjugados diretamente e aqueles que precisam primeiro ser biotransformados em um metabólito eletrofílico antes da conjugação. As próprias reações de conjugação podem ser dividas em dois tipos: *reações de deslocamento*, nas quais a glutationa desloca um grupo retirador de elétrons, e *reações de adição*, nas quais a glutationa é adicionada a uma ligação dupla ativada ou a um sistema de anel tensionado.

O deslocamento de um grupo retirador de elétrons pela glutationa costuma ocorrer quando o substrato contém grupos haleto, sulfato, sulfonato, fosfato ou nitro (i.e., bons *grupos de saída*) ligados a um átomo de carbono alílico ou benzílico.

A adição de glutationa a uma ligação dupla carbono-carbono também é facilitada pela presença de um grupo retirador de elétrons próximo; assim, substratos para essa reação normalmente contêm uma ligação dupla ligada a –CN, –CHO, –COOR ou –COR.

A glutationa também pode conjugar xenobióticos com um heteroátomo eletrofílico (*O*, *N* e *S*). Em cada um dos exemplos apresentados na Figura 6.20, o conjugado inicial formado entre a glutationa e o heteroátomo é clivado por uma segunda molécula de glutationa para formar glutationa oxidada (GSSG). A reação inicial é catalisada pela glutationa *S*-transferase, enquanto a segunda reação (a qual leva a formação de GSSG) geralmente ocorre de forma não enzimática.

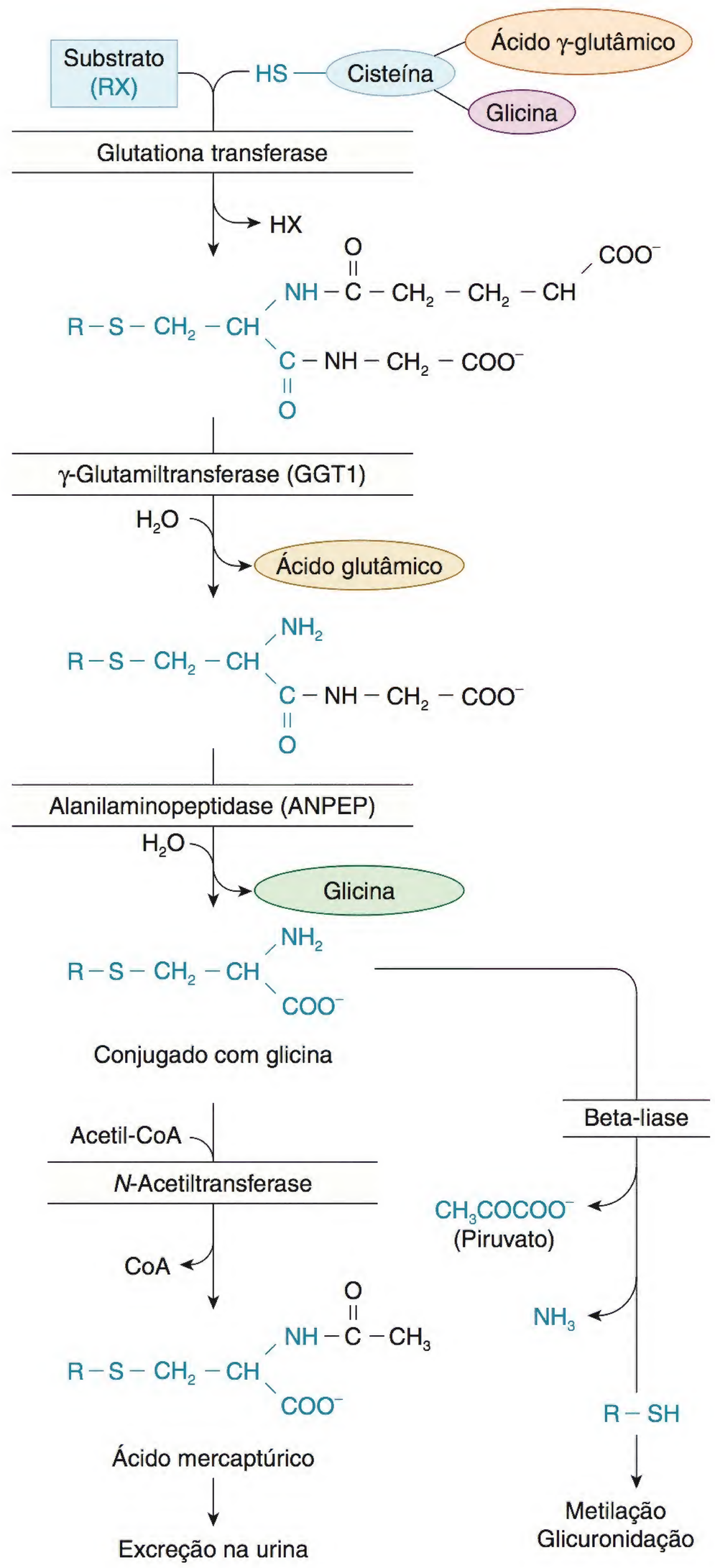


FIGURA 6.21 Conjugação com glutationa e biossíntese de ácido mercaptúrico.

Os conjugados com glutationa formados no fígado podem ser transportados por efluxo para a bile e o sangue e podem ser convertidos a ácidos mercaptúricos nos rins e excretados na urina. Como mostrado na Figura 6.21, a conversão dos conjugados com glutationa para ácidos mercaptúricos envolve a clivagem sequencial do ácido glutâmico e da glicina do grupamento glutationa, seguida pela *N*-acetilação do conjugado de cisteína resultante.

As glutationas *S*-transferases são dímeros compostos de subunidades idênticas, embora algumas formas sejam heterodímeros. Cada subunidade contém de 199 a 244 aminoácidos e um sítio catalítico. Numerosas subunidades foram clonadas e sequenciadas e diferem em especificidade de substrato, localização tecidual e localização celular. A conjugação com glutationa representa uma importante reação de detoxificação porque eletrófilos são espécies potencialmente tóxicas que podem ligar-se a nucleófilos críticos, tais como proteínas e ácidos nucleicos, causando danos celulares e mutações genéticas. A glutationa também é um cofator para a glutationa peroxidase, que é importante na proteção da célula contra a peroxidação lipídica e da hemoglobina.

Em alguns casos, a conjugação com a glutationa aumenta a toxicidade de um xenobiótico. Os conjugados com glutationa de vários compostos podem ativar xenobióticos para tornarem-se tóxicos pela liberação de um metabólito tóxico, sendo inerentemente tóxicos ou sendo degradados para um metabólito tóxico.

REFERÊNCIAS

Coleman MD: *Human Drug Metabolism: An Introduction.* Hoboken, NJ: John Wiley, 2005.

Uetrecht JP, Trager W: *Drug Metabolism: Chemical and Enzymatic Aspects.* New York: Informa Healthcare, 2007.

Yan Q: *Pharmacogenomics in Drug Discovery and Development.* Totowa, NJ: Humana Press, 2008.

QUESTÕES

1. A biotransformação de xenobióticos é realizada por múltiplas enzimas em múltiplas localizações subcelulares. Onde uma dessas enzimas provavelmente NÃO está localizada?
   a. Citosol
   b. Complexo de Golgi
   c. Lisossomo
   d. Mitocôndria
   e. Microssomo

2. Todas as seguintes afirmações a respeito de biotransformações por hidrólise, redução e oxidação são verdadeiras, EXCETO:
   a. O xenobiótico pode ser hidrolizado.
   b. O xenobiótico pode ser reduzido.
   c. Existe um grande aumento de hidrofilicidade.
   d. As reações introduzem um grupo funcional à molécula.
   e. O xenobiótico pode ser oxidado.

3. Qual dos seguintes grupos é frequentemente conjugado a xenobióticos durante biotransformações de fase II?
   a. Grupo álcool
   b. Grupo sulfidrila
   c. Grupo sulfato
   d. Grupo aldeído
   e. Grupo carbonila

4. Qual das seguintes afirmações é verdadeira sobre a biotransformação do etanol?
   a. A álcool desidrogenase está presente somente no fígado.
   b. O etanol é reduzido para acetaldeído pela álcool desidrogenase.
   c. O etanol e o peróxido de hidrogênio combinam-se para formar acetaldeído com ajuda da catalase.
   d. Apesar de sua versatilidade catalítica, o citocromo P450 não ajuda na oxidação do etanol.
   e. O acetaldeído é oxidado a ácido acético na mitocôndria pela aldeído desidrogenase.

5. Qual das seguintes enzimas é responsável pela biotransformação e eliminação da serotonina?
   a. Citocromo P450
   b. Monoamino oxidase
   c. Flavina monoxigenase
   d. Xantina oxidase
   e. Paraoxonase

6. Qual das seguintes reações provavelmente NÃO seria catalisada pelo citocromo P450?
   a. Desidrogenação
   b. Transferência oxidativa de grupamento
   c. Epoxidação
   d. Desalogenação redutiva
   e. Clivagem de éster

7. Todas as afirmações a seguir sobre o citocromo P450 são verdadeiras, EXCETO:
   a. Metabolismo ou biotransformação lentos de xenobióticos costumam ser decorrentes de uma deficiência genética no citocromo P450.
   b. O citocromo P450 pode ser inibido tanto por inibidores competitivos como por não competitivos.
   c. Certas enzimas do citocromo P450 podem ser induzidas pela dieta do indivíduo.
   d. A atividade aumentada do citocromo P450 sempre diminui a taxa de ativação do xenobiótico.
   e. A indução do citocromo P450 pode levar a uma tolerância aumentada a fármacos.

8. Qual das afirmativas seguintes em relação à biotransformação de fase II (conjugação) é verdadeira?
   a. As reações de fase II aumentam marcadamente a hidrofilicidade do xenobiótico.
   b. As reações de fase II são normalmente a etapa limitante na biotransformação e excreção de xenobióticos.
   c. Grupos carboxila são adições muito comuns nas reações de fase II.
   d. A maioria das reações de fase II ocorre espontaneamente.
   e. Reações de fase II aumentadas resultam em armazenagem aumentada dos xenobióticos nos adipócitos.

9. Onde ocorre a maior parte das biotransformações de fase II?
   a. Na mitocôndria
   b. RE
   c. No sangue
   d. No núcleo
   e. No citoplasma

10. Qual dos seguintes itens não é um cossubstrato importante para as reações de biotransformação de fase II?
   a. UDP-ácido glicurônico
   b. 3′-fosfoadenosina-5′-fosfosulfato (PAPS)
   c. *S*-adenosilmetionina (SAM)
   d. *N*-nitrosodietilamina
   e. Acetil-CoA

CAPÍTULO

7

Toxicocinética

Danny D. Shen

INTRODUÇÃO

TOXICOCINÉTICA CLÁSSICA

- **Modelo monocompartimental**
- **Modelo bicompartimental**
- **Eliminação**
- **Volume de distribuição aparente**
- ***Clearance***
- **Relação entre meia-vida de eliminação, *clearance* e volume de distribuição**
- **Absorção, biodisponibilidade e biotransformação**
- **Toxicocinética dose-dependente**
- **Acúmulo durante exposição contínua ou intermitente**

TOXICOCINÉTICA COM BASE FISIOLÓGICA

- **Modelo básico**
- **Compartimentos**
- **Parâmetros**
  - Anatômico
  - Fisiológico
  - Termodinâmico
  - Transporte
- **Compartimentos limitados pela perfusão**
- **Compartimentos limitados pela difusão**
- **Compartimentos especializados**
  - Pulmões
  - Fígado

CONCLUSÃO

PONTOS-CHAVE

- *Toxicocinética* é o estudo dos modelos e da descrição matemática da disposição cinética (absorção, distribuição, biotransformação e excreção) do xenobiótico no organismo.
- O volume de distribuição aparente (V_d) é o espaço no qual uma quantidade do xenobiótico é distribuída no organismo resultando em uma determinada concentração plasmática.
- O *clearance* descreve a velocidade de eliminação do xenobiótico do organismo em termos do volume de fluido que é totalmente depurado por unidade de tempo.
- Meia-vida de eliminação ($T_{1/2}$) é o tempo necessário para que a concentração do xenobiótico no sangue ou plasma seja reduzida à metade.

INTRODUÇÃO

Toxicocinética é o estudo dos modelos e da descrição matemática da disposição cinética (absorção, distribuição, biotransformação e excreção) do xenobiótico no organismo. No *modelo clássico*, considera-se que os xenobióticos sejam distribuídos completamente no organismo em um, dois ou mais compartimentos, os quais não necessariamente representam a fisiologia ou a anatomia real. Nos modelos toxicocinéticos com base fisiológica, o organismo é representado como uma série de equações de equilíbrio de massas, as quais descrevem cada órgão ou tecido considerando suas bases fisiológicas. Não há contradição inerente entre os modelos clássicos e os modelos com base fisiológica, entretanto alguns pressupostos diferem entre ambos. Teoricamente, somente os modelos com base fisiológica podem prever as concentrações teciduais.

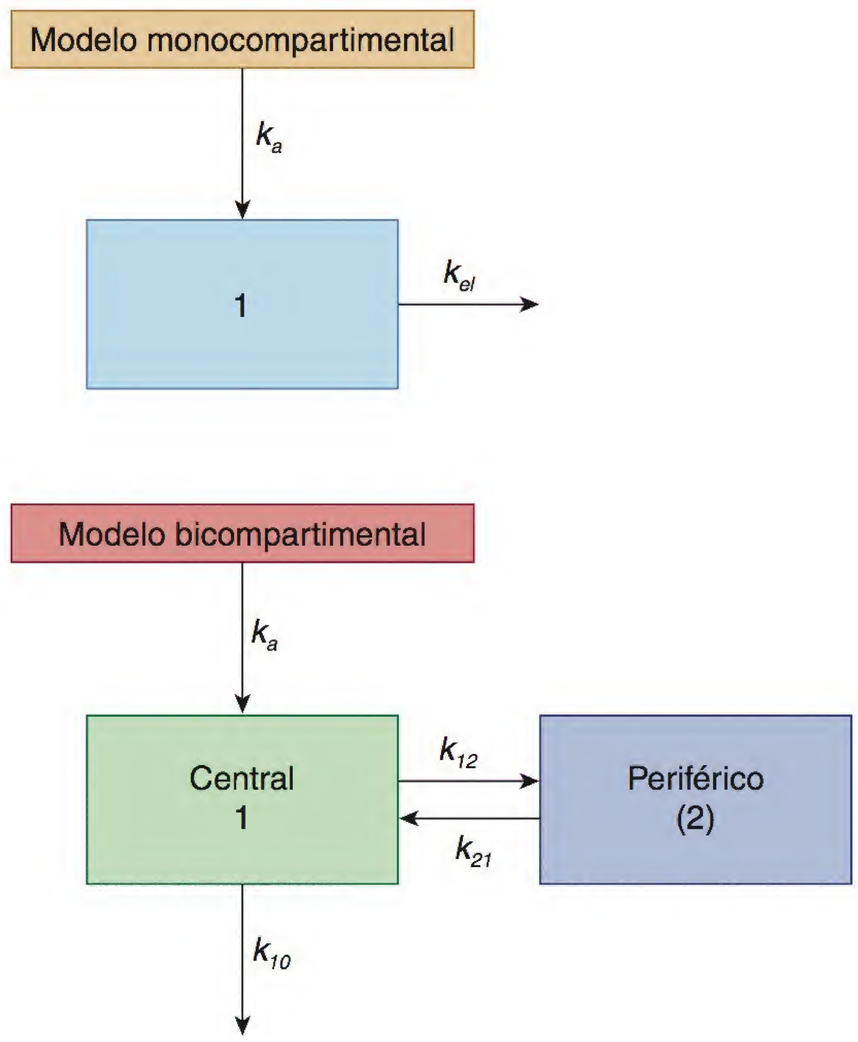


FIGURA 7.1 Modelos farmacocinéticos compartimentais, nos quais k_a é a constante de velocidade de absorção de primeira ordem para o compartimento central (1), k_{el} é a constante de velocidade de eliminação de primeira ordem a partir do compartimento central (1), k_{12} e k_{21} são as constantes de velocidade de distribuição de primeira ordem "para" e "a partir do" compartimento periférico (2) no modelo bicompartimental, enquanto k_{10} é a constante de velocidade de eliminação de primeira ordem a partir do compartimento central em um modelo bicompartimental.

TOXICOCINÉTICA CLÁSSICA

O método mais simples e menos invasivo para a obtenção de informações relativas aos processos de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação de um xenobiótico é por meio da coleta seriada de amostras de sangue ou plasma. As alterações nas concentrações plasmáticas de um xenobiótico refletem as alterações nas concentrações teciduais, desde que a concentração do xenobiótico no sangue ou plasma esteja em equilíbrio com as concentrações nos tecidos. Os modelos farmacocinéticos compartimentais compreendem um compartimento central representando o plasma e os tecidos nos quais o xenobiótico rapidamente entra em equilíbrio conectado a um ou mais compartimentos periféricos, nos quais o xenobiótico entra em equilíbrio com os tecidos de forma mais lenta (Fig. 7.1). O xenobiótico é exposto ao compartimento central e distribuído entre os compartimentos central e periférico. Sua eliminação ocorre a partir do compartimento central, o qual é composto por tecidos de alta perfusão capazes de eliminá-lo (p. ex., rins, pulmões e fígado). Os modelos farmacocinéticos compartimentais não necessitam de informações relativas à anatomia e à fisiologia do tecido. Esses modelos são de grande importância para prever as concentrações plasmáticas do xenobiótico em diferentes doses, determinando o perfil das concentrações plasmáticas e teciduais ao longo do tempo, o acúmulo em regime de dose múltipla e a dose efetiva em estudos de toxicidade.

Modelo monocompartimental

A análise toxicocinética mais simples requer a quantificação da concentração plasmática de um xenobiótico em diversos momentos após a administração de uma dose intravenosa em *bolus*. A toxicocinética pode ser descrita por modelo monocompartimental quando o logaritmo das concentrações plasmáticas *versus* tempo resultar em uma reta caracterizada por uma única função exponencial (Fig. 7.2). Considerando o organismo como uma unidade homogênea, os compostos com toxicocinética monocompartimental apresentam equilíbrio instantâneo entre o sangue e os diversos tecidos. Isso não significa que a concentração do xenobiótico é a mesma em todo o organismo, mas que as alterações que ocorrem nas concentrações plasmáticas refletem alterações proporcionais nas concentrações teciduais.

No modelo monocompartimental de administração intravenosa em *bolus*, a concentração plasmática do xenobiótico pode ser obtida em qualquer tempo pela equação:

$$C = C_0\, e^{-k_{el}t}$$

na qual C representa a concentração sanguínea ou plasmática do xenobiótico em um determinado tempo t, C_0 representa a concentração sanguínea ou plasmática no tempo zero, e k_{el} a constante de velocidade de eliminação de primeira ordem e unidade de tempo recíproca (p. ex., t^{-1}). k_{el} representa a constante de velocidade de eliminação total do xenobiótico, incluindo a biotransformação e todas as vias de eliminação do xenobiótico não biotransformado.

Modelo bicompartimental

Alguns xenobióticos administrados por via intravenosa rápida não podem ser caracterizados por uma única função exponencial, pois as concentrações plasmáticas *versus* tempo inseridas em um gráfico semi-logarítmico exibem duas retas, implicando a presença das fases de distribuição e eliminação. Nesse caso, o xenobiótico requer um tempo maior para que as concentrações teciduais alcancem o equilíbrio com as concentrações plasmáticas, sendo necessária uma análise multicompartimental dos resultados (Fig. 7.2). Uma equação matemática multiexponencial é a que melhor caracteriza a eliminação do xenobiótico a partir do plasma.

Em geral, uma curva desse tipo pode ser expressa em dois termos monoexponenciais (modelo bicompartimenatal), descritos pela equação:

$$C = Ae^{-\alpha t} + Be^{-\beta t}$$

na qual A e B representam as constantes de proporcionalidade e α e β representam as constantes de velocidade de distribuição e eliminação, respectivamente (Fig. 7.2). Durante a fase de distribuição (α), a concentração do xenobiótico no plasma decai mais rapidamente do que na fase de eliminação pós-distribucional (β). A fase de distribuição pode durar alguns minutos ou até horas ou dias. O equivalente do k_{el} no modelo monocompartimental é o β no modelo bicompartimental.

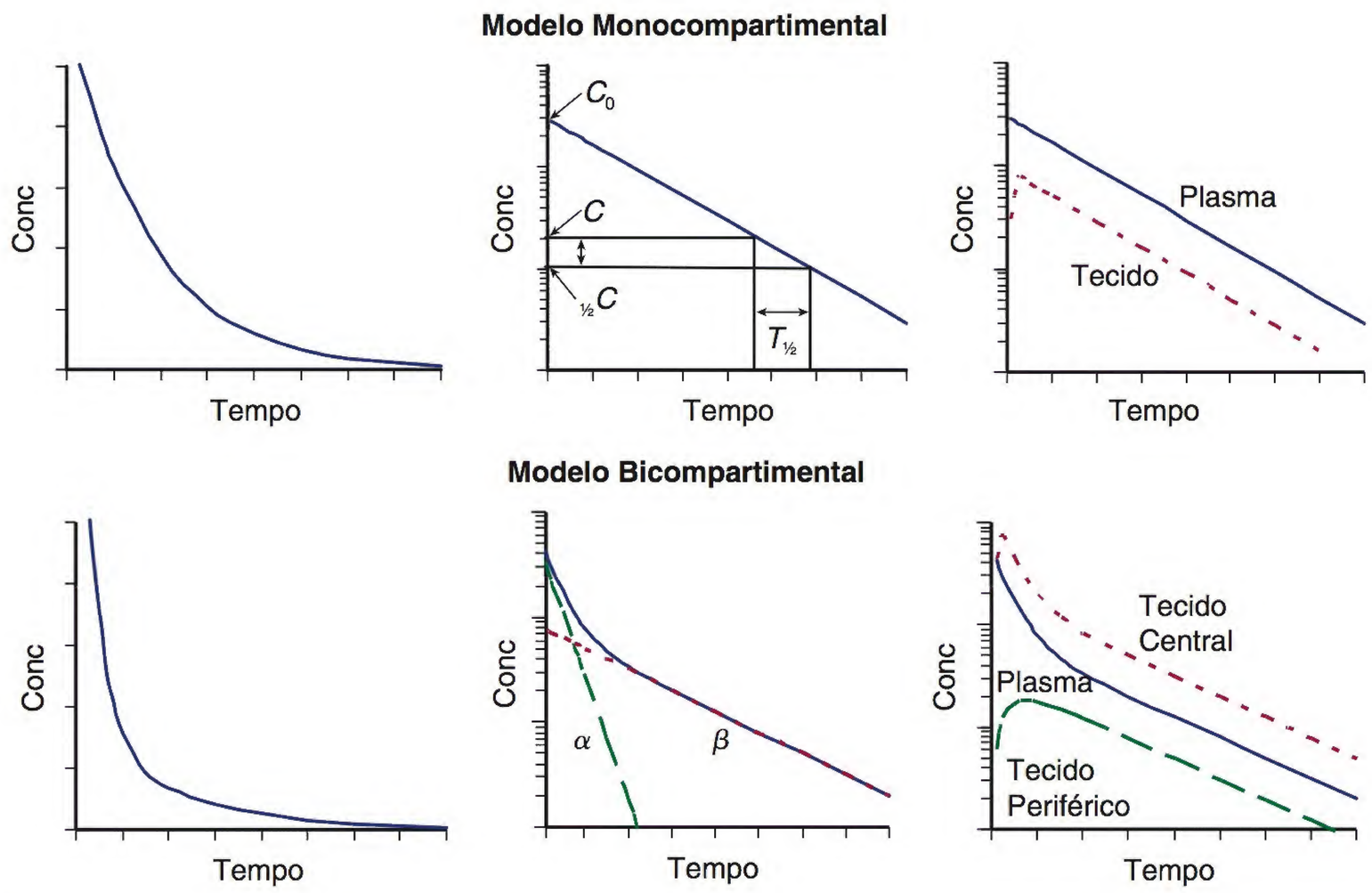


FIGURA 7.2 Curvas de concentração plasmática *versus* tempo de xenobióticos que exibem modelo monocompartimental (gráficos superiores) e modelo bicompartimental (gráficos inferiores) após a administração intravenosa em *bolus*. Os painéis da esquerda e central apresentam os gráficos em escala linear e semi-logarítmica, respectivamente. Os painéis da direita ilustram a relação entre as concentrações teciduais (*linhas tracejadas*) e as plasmáticas (*linhas cheias*) ao longo do tempo.

O painel da direita do modelo monocompartimental apresenta um exemplo típico de concentração tecidual menor que a concentração do plasma. Observe que a concentração tecidual pode ser maior, aproximadamente igual, ou menor que a concentração plasmática. As concentrações teciduais máximas ocorrem imediatamente e, em seguida, declinam em paralelo com as concentrações plasmáticas. O painel da direita para o modelo bicompartimental apresenta um exemplo típico de tecidos associados ao compartimento central (1) e aos compartimentos periféricos (2), representados por linhas tracejadas curtas e longas, respectivamente. As concentrações de um xenobiótico nos tecidos associados ao compartimento central declinam em paralelo com o plasma. No entanto, as concentrações de um xenobiótico nos tecidos associados com o compartimento periférico aumentam durante a fase inicial, enquanto as concentrações plasmáticas declinam rapidamente; dessa forma, as concentrações teciduais atingem o pico e, por fim, declinam em paralelo com as concentrações plasmáticas na fase terminal. A constante de velocidade de eliminação k_{el} para o modelo monocompartimental e a constante de velocidade de eliminação β para o modelo bicompartimental são determinadas a partir da inclinação da reta terminal no gráfico semi-logarítmico concentração *versus* tempo. A meia-vida ($T_{1/2}$) é o tempo necessário para que a concentração plasmática do xenobiótico reduza à metade. No modelo monocompartimental, a C_0 representa a concentração do xenobiótico no tempo zero, determinada por extrapolação do gráfico semi-logarítmico concentração plasmática *versus* tempo para o eixo *Y*.

Eliminação

A eliminação compreende os processos de biotransformação e excreção. A eliminação de um xenobiótico do organismo, cuja disposição cinética é descrita por modelo monocompartimental, geralmente ocorre por meio de um processo de primeira ordem; ou seja, a velocidade de eliminação é proporcional à quantidade do xenobiótico no organismo em qualquer tempo. A toxicocinética é descrita por um modelo de primeira ordem quando a concentração do xenobiótico não é suficientemente alta para saturar o processo de eliminação.

A equação para o modelo monoexponencial, $C = C_0\ e^{-k_{el}t}$ (*manter o dístico original)*, pode ser transformada em equação logarítmica que apresenta a forma geral de uma linha reta, $y = mx + b$:

$$\log C = \left(\frac{k_{el}}{2{,}303}\right)t + \log C_0$$

na qual o $\log C_0$ representa o intercepto no eixo y ou a concentração inicial e (k_{el}/2,303) representa a inclinação da reta. A constante de velocidade de eliminação de primeira ordem (k_{el}) pode ser determinada a partir da inclinação no gráfico semi-logarítmico C *versus* tempo (ou seja, k_{el} = 2,303 x inclinação). As constantes de velocidade de eliminação, k_{el} e β, apresentam unidades de tempo recíprocas (p. ex., min^{-1} e h^{-1}) e são independentes da dose.

Matematicamente, a fração da dose que permanece no organismo ao longo do tempo (C/C_0) é calculada empregando a constante de velocidade de eliminação pelo rearranjo da equação anterior:

$$\frac{C}{C_0} = \text{Antilog}\left[\left(\frac{-k_{el}}{2{,}303}\right)t\right]$$

Volume de distribuição aparente

O modelo monocompartimental assume que o equilíbrio de distribuição do xenobiótico entre o plasma e os tecidos ocorra instantaneamente. O volume de distribuição aparente (V_d) é uma constante de proporcionalidade que relaciona a quantidade total do xenobiótico no organismo com sua concentração plasmá-

tica, sendo geralmente descrito por unidade em litros ou litros por quilograma de peso corporal. O V_d é o espaço no qual uma quantidade do xenobiótico é distribuída no organismo resultando em uma determinada concentração plasmática. O volume de distribuição aparente de um xenobiótico no organismo é determinado após a administração intravenosa em *bolus*, sendo matematicamente definido como o quociente entre a quantidade do xenobiótico no organismo e sua concentração plasmática. O V_d é calculado pela equação:

$$V_d = \frac{\text{Dose}_{iv}}{\beta \times \text{AUC}_0^\infty}$$

na qual a Dose_{iv} representa a dose intravenosa ou a quantidade do xenobiótico no organismo no tempo zero, β representa a constante de velocidade de eliminação, e AUC_0^∞ representa a área sob a curva da concentração plasmática do xenobiótico *versus* tempo a partir do tempo zero até o infinito.

O V_d para um xenobiótico descrito por modelo monocompartimental pode ser obtido com base na seguinte equação:

$$V_d = \frac{\text{Dose}_{iv}}{C_0}$$

na qual C_0 representa a concentração plasmática do xenobiótico no tempo zero. A C_0 é determinada pela extrapolação da curva de decaimento plasmático no eixo y para o tempo zero após a administração intravenosa do xenobiótico (Fig. 7.2). O V_d é chamado de *volume de distribuição aparente*. A dimensão do V_d é específica para cada xenobiótico e representa a extensão da distribuição no espaço extravascular. Assim, um xenobiótico com alta afinidade pelos tecidos também apresentará um alto volume de distribuição. No entanto, um xenobiótico que permanecer predominantemente no plasma apresentará um baixo V_d, cujo valor se aproximará do volume de plasma. O conhecimento do V_d do xenobiótico pode ser empregado para estimar sua quantidade no organismo em qualquer tempo, desde que a concentração plasmática seja conhecida, pela relação $X_c = V_d C_p$, na qual X_c representa a quantidade do xenobiótico no organismo e C_p representa a concentração plasmática do xenobiótico.

Clearance

O *clearance* descreve a velocidade de eliminação do xenobiótico do organismo como o volume de fluido que é totalmente depurado do xenobiótico por unidade de tempo. Portanto, o *clearance* apresenta unidade de fluxo (mL/min). Um *clearance* de 100 mL/min significa que 100 mL de sangue ou plasma são completamente depurados do xenobiótico por minuto.

O *clearance* caracteriza a eficiência da remoção de um xenobiótico do organismo. Altos valores de *clearance* indicam remoção eficiente e geralmente rápida, enquanto baixos valores indicam remoção menos eficiente e mais lenta. O *clearance total* é definido como a somatória dos *clearances* individuais de cada órgão:

$$\text{Cl} = \text{Cl}_{\text{renal}} + \text{Cl}_{\text{hepático}} + \text{Cl}_{\text{intestinal}} + \cdots$$

O *clearance* de cada órgão é determinado pela perfusão sanguínea através do órgão e da fração do xenobiótico irreversivelmente removida do sangue arterial na passagem pelo órgão. O *clearance* total, após a administração intravenosa em *bolus*, é definido como:

$$\text{Cl} = \frac{\text{Dose}_{iv}}{\text{AUC}_0^\infty}$$

O *clearance* também pode ser calculado quando são conhecidos o volume de distribuição e a constante de velocidade de eliminação, podendo ser definido como $\text{Cl} = V_d k_{el}$ para o modelo monocompartimental e $\text{Cl} = V_d\beta$ para o modelo bicompartimental.

Relação entre meia-vida de eliminação, *clearance* e volume de distribuição

A meia-vida de eliminação ($T_{1/2}$) é o tempo necessário para que a concentração do xenobiótico no sangue ou plasma reduza à metade. É dependente tanto do volume de distribuição quanto do *clearance*. A $T_{1/2}$ pode ser calculada a partir do V_d e do Cl:

$$T_{1/2} = \frac{0{,}693 V_d}{\text{Cl}}$$

Considerando a relação $T_{1/2} = 0{,}693/k_{el}$, a meia-vida de um xenobiótico pode ser calculada após k_{el} (ou β) ter sido determinada a partir da inclinação da reta que designa a fase de eliminação no gráfico semi-logarítmico *C versus* tempo. A $T_{1/2}$ também pode ser determinada por meio da inspeção visual do gráfico semi-logarítmico *C versus* tempo, como mostra a Figura 7.2. O tempo necessário para que a concentração plasmática reduza à metade é constante para os xenobióticos eliminados por cinética de primeira ordem. Aproximadamente 99,2% da dose de um xenobiótico é eliminada após sete meias-vidas, o que pode ser considerado praticamente uma eliminação completa. A meia-vida de um xenobiótico que obedece à cinética de primeira ordem é independente da dose.

Absorção, biodisponibilidade e biotransformação

A absorção da maioria dos xenobióticos de importância na toxicologia é incompleta em função de a exposição ocorrer por vias extravasculares (inalatória, dérmica e oral). A extensão da absorção de um xenobiótico pode ser determinada experimentalmente comparando os valores de AUC_0^∞ obtidos após a administração intravenosa e extravascular. A razão resultante ($\text{AUC}_{0\ iv}^\infty$ / $\text{AUC}_{0\ ev}^\infty$), denominada *biodisponibilidade* (*F*), expressa a fração da dose absorvida. A biodisponibilidade pode ser avaliada em diferentes doses para os xenobióticos que não apresentam cinética dose-dependente ou saturável. Os parâmetros farmacocinéticos obtidos na administração intravenosa são utilizados como referência quando comparados com a administração extravascular, uma vez que todo xenobiótico administrado por via intravenosa está totalmente disponível na circulação sistêmica (100% biodisponível). A biodisponibilidade após a administração oral, por exemplo, pode ser determinada pela seguinte equação:

$$F = \frac{\text{AUC}_{po} / \text{Dose}_{po}}{\text{Dose}_{iv} / \text{AUC}_{iv}}$$

na qual AUC_{po}, AUC_{iv}, $Dose_{po}$ e $Dose_{iv}$ representam as respectivas áreas sob as curvas concentração plasmática *versus* tempo e administração de doses via oral e intravenosa. Os valores de biodisponibilidade de xenobióticos oscilam entre 0 e 1. A biodisponibilidade de um xenobiótico é considerada completa quando $F = 1$. Quando $F < 1$, significa que menos de 100% da dose atinge a circulação sistêmica. A fração da dose de um xenobiótico que atinge a circulação sistêmica é de fundamental importância na avaliação da toxicidade. A biodisponibilidade pode ser alterada por vários fatores, incluindo (1) absorção limitada após a administração oral; (2) efeito de primeira passagem intestinal; (3) efeito de primeira passagem hepático; e (4) formulação, a qual afeta, por exemplo, a velocidade de dissolução ou incorporação em micelas (para compostos lipossolúveis).

A toxicidade de um xenobiótico, em alguns casos, é atribuída ao(s) produto(s) de biotransformação, sendo, portanto, de grande interesse o conhecimento da formação e da disposição cinética dos produtos de biotransformação. A concentração plasmática de um produto de biotransformação aumenta à medida que o xenobiótico é biotransformado em seu produto. A importância toxicológica de um produto de biotransformação ativo é maior para os produtos formados em maior extensão e eliminados mais lentamente do que o xenobiótico inalterado.

Toxicocinética dose-dependente

O volume de distribuição e a velocidade de eliminação de um xenobiótico podem ser alterados em função do aumento da dose devido à ocorrência de saturação em um ou mais processos da toxicocinética. Os processos de biotransformação, transporte ativo e ligação às proteínas apresentam capacidade finita e podem ser saturados. Quando a concentração de um xenobiótico no organismo for superior à K_m (concentração do xenobiótico quando a velocidade da biotransformação é igual à metade do V_{max}, capacidade metabólica máxima), a velocidade de eliminação não é mais proporcional à dose. A transição da cinética de primeira ordem para a cinética de ordem zero é importante na toxicologia, pois pode conduzir ao prolongamento no tempo de residência do xenobiótico no organismo ou aumentar a concentração dele no sítio alvo, o que pode resultar em maior toxicidade.

Os compostos com toxicocinética não linear apresentam as seguintes características: (1) redução não exponencial das concentrações do xenobiótico no organismo; (2) parâmetro AUC_0^∞ não proporcional à dose; (3) parâmetros V_d, Cl, k_{el} (ou β) ou $T_{1/2}$ alterados com o aumento da dose; (4) alterações quantitativas ou qualitativas dos produtos de excreção com o aumento da dose; (5) inibição competitiva por outros xenobióticos biotransformados ou transportados pelas mesmas proteínas; e (6) curvas dose-resposta com alterações não proporcionais na resposta com o aumento da dose, processo que se inicia na dose na qual a saturação se torna evidente.

A eliminação de alguns xenobióticos do organismo pode ser descrita como um processo saturável. As características importantes presentes no processo de ordem zero são apresentadas a seguir: (1) o gráfico aritmético de concentração plasmática *versus* tempo resulta em uma reta paralela ao eixo x; (2) a quantidade do xenobiótico eliminada em qualquer tempo é constante e independente da quantidade presente no organismo; e (3) os valores de $T_{1/2}$ ou k_{el} variam de acordo com a dose.

Em comparação, as características importantes da toxicocinética de xenobióticos por processos de primeira ordem são: (1) a velocidade de eliminação do xenobiótico em qualquer tempo é diretamente proporcional a sua quantidade no organismo; (2) um gráfico semi-logarítmico de concentração plasmática *versus* tempo resulta em decaimento exponencial; (3) a constante de velocidade de eliminação (K_{el} ou β), o volume aparente de distribuição (V_d), o *clearance* (Cl) e a meia-vida ($T_{1/2}$) são parâmetros independentes da dose; e (4) as concentrações plasmática e tecidual do xenobiótico diminuem em paralelo de acordo com uma fração constante por unidade de tempo, a qual corresponde à constante de velocidade de eliminação (K_{el} ou β).

Acúmulo durante exposição contínua ou intermitente

A exposição crônica a um xenobiótico pode resultar em acúmulo no organismo. A exposição contínua ao xenobiótico, em níveis fixos, promove o estado de equilíbrio, uma situação de acúmulo em que a velocidade da absorção corresponde à velocidade de eliminação.

O acúmulo também ocorre com a exposição intermitente. A extensão do acúmulo é baixa para os xenobióticos com meia-vida relativamente curta em relação aos intervalos entre os episódios de exposição. Em contraste, a extensão do acúmulo é progressiva ao longo do tempo para os xenobióticos com meia-vida de eliminação igual ou maior ao intervalo entre os episódios de exposição.

TOXICOCINÉTICA COM BASE FISIOLÓGICA

Na toxicocinética clássica, as constantes de velocidade são definidas por modelos baseados nos dados de concentração do xenobiótico ao longo do tempo. Nos modelos baseados na fisiologia, as constantes de velocidade representam processos biológicos hipotéticos ou conhecidos. As vantagens dos modelos com base fisiológica incluem: (1) o conhecimento do perfil de distribuição dos xenobióticos ao longo do tempo para qualquer órgão ou tecido; (2) a estimativa dos efeitos das alterações dos parâmetros fisiológicos nas concentrações teciduais do xenobiótico; (3) a previsão da toxicocinética do xenobiótico entre espécies por meio de escala alométrica; e (4) a facilidade de adaptação de regimes de dosagem complexos e de processos saturáveis, tais como o metabolismo e a ligação proteica.

Modelo básico

Os modelos fisiológicos geralmente se assemelham a uma série de modelos monocompartimentais clássicos que são conectados entre si. A *estrutura* do modelo real, ou *como* os compartimentos estão conectados entre si, depende tanto do xenobiótico quanto do organismo em estudo. É importante enfatizar que não existe um modelo fisiológico geral. Os modelos são simplificações da realidade, devendo conter os elementos considerados importantes na descrição da disposição cinética do xenobiótico.

Os modelos com base fisiológica demonstram grande potencial de predição quando comparados com os modelos compartimentais clássicos, uma vez que as constantes cinéticas dos modelos fisiológicos representam processos biológicos ou químicos mensuráveis.

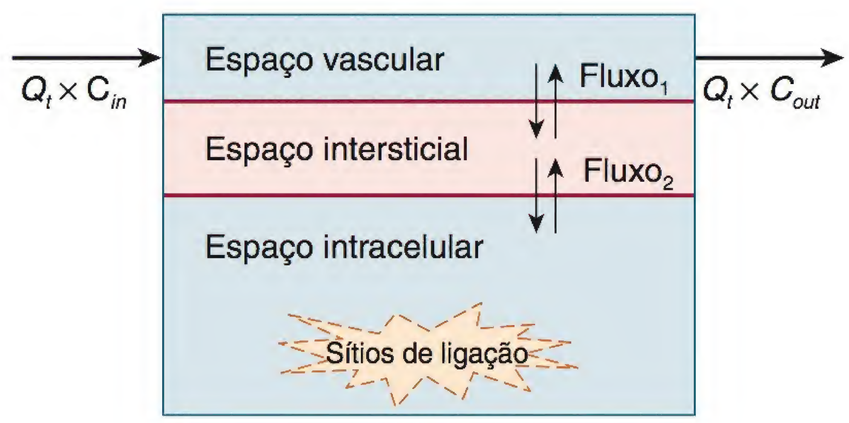


FIGURA 7.3 Representação esquemática de um compartimento simplificado do modelo com base fisiológica. Os capilares sanguíneos e as membranas celulares que delimitam os subcompartimentos vascular, intersticial e intracelular estão representados em preto. Os subcompartimentos vascular e intersticial são, geralmente, combinados em um único subcompartimento extracelular. Q_t representa o fluxo sanguíneo, C_{in} representa a concentração do xenobiótico que entra no compartimento e C_{out} representa a concentração do xenobiótico que deixa o compartimento.

O potencial de predição dos modelos com base fisiológica pode ser ilustrado pela capacidade de extrapolação do comportamento cinético de animais de experimentação para humanos. As *simulações* são os resultados (tais como a concentração do xenobiótico no sangue ou no tecido) obtidos a partir da integração numérica das equações do modelo ao longo do tempo, empregando um conjunto de condições iniciais (como dose intravenosa) e parâmetros fisiológicos (tais como o peso dos órgãos e o fluxo sanguíneo). Ressalta-se que a estrutura do modelo da toxicocinética de um xenobiótico em roedores e humanos pode ser idêntica; no entanto, os parâmetros fisiológicos, tais como o peso do órgão, a frequência cardíaca e a ventilação, entre outros, são diferentes.

Outros parâmetros, tais como a solubilidade nos tecidos, são semelhantes nos modelos de roedores e humanos, uma vez que a composição dos tecidos é similar entre as diferentes espécies. Os parâmetros que integram a estrutura do modelo com base fisiológica representam variáveis biológicas e químicas mensuráveis, permitindo que valores apropriados sejam estabelecidos de acordo com a espécie e formando, assim, a base para uma extrapolação interespécie com sucesso. Uma vez que os modelos com base fisiológica representam os valores reais quantificados, tais como o fluxo sanguíneo e a ventilação, uma mesma estrutura de modelo pode distinguir o comportamento toxicocinético de um xenobiótico entre as espécies.

Compartimentos

O compartimento simplificado (Fig. 7.3) é a unidade básica do modelo fisiológico, o qual representa uma única região do organismo com uma concentração uniforme do xenobiótico. Um compartimento pode ser uma porção anatômica ou funcional de um órgão, um vaso sanguíneo, um órgão inteiro, como fígado ou rins, ou um tecido amplamente distribuído, como a gordura ou a pele. Os compartimentos são constituídos por três fases homogêneas e distintas entre si, ou subcompartimentos. Esses subcompartimentos são (1) o espaço *vascular*, no qual o compartimento é perfundido com sangue; (2) o espaço *intersticial*, que forma a matriz para as células; e (3) o espaço *intracelular*, que é constituído pelas células de um tecido.

Como mostra a Figura 7.3, o xenobiótico entra no subcompartimento vascular a uma determinada velocidade em termos de massa por unidade de tempo (p. ex., mg/h). A velocidade de entrada é o produto entre o fluxo sanguíneo para o tecido (Q_t, L/h) e a concentração sanguínea do xenobiótico que entra no tecido (C_{in}, mg/L). No interior do compartimento, o xenobiótico distribui-se do espaço vascular para o espaço intersticial em determinada velocidade (Fluxo_1), e do espaço intersticial para o espaço intracelular em uma velocidade diferente (Fluxo_2). Alguns xenobióticos podem ligar-se aos componentes celulares, de tal forma que dentro do compartimento podem existir ambos, o xenobiótico livre e o ligado. O xenobiótico deixa o compartimento em uma determinada concentração venosa (C_{out}). A C_{out} corresponde à concentração do xenobiótico no espaço vascular.

Parâmetros

Os modelos com base fisiológica costumam exigir informações relacionadas aos parâmetros *anatômicos, fisiológicos, termodinâmicos* e de *transporte.*

Anatômico Os parâmetros anatômicos são utilizados na descrição física dos vários compartimentos. O tamanho de cada compartimento deve ser conhecido no modelo com base fisiológica. O tamanho é geralmente definido em termos de volume (mililitros ou litros), e a densidade é considerada como unitária, embora, na maioria dos casos, o peso seja o parâmetro obtido experimentalmente. Se um compartimento contém subcompartimentos, tais como aqueles mostrados na Figura 7.3, seus volumes também devem ser conhecidos. Os volumes dos compartimentos são frequentemente obtidos da literatura ou de experimentos toxicocinéticos específicos.

Fisiológico Os parâmetros fisiológicos englobam vários processos, tais como o fluxo sanguíneo, a ventilação e a eliminação. O fluxo sanguíneo (Q_t, em volume por unidade de tempo, como, p. ex., mL/min ou L/h) para os compartimentos individuais deve ser conhecido. Além disso, são necessárias informações relativas ao fluxo sanguíneo total ou débito cardíaco (Q_c). Caso a inalação seja a via de exposição ou de eliminação de um xenobiótico, a ventilação alveolar (Q_p) também deve ser conhecida. O fluxo sanguíneo e a ventilação podem ser obtidos da literatura ou experimentalmente. O *clearance* renal e os parâmetros que descrevem as velocidades de biotranformação são necessários caso esses processos sejam importantes na descrição da eliminação do xenobiótico.

Termodinâmico Os parâmetros termodinâmicos relacionam a concentração *total* do xenobiótico no tecido (C_t) com a concentração do xenobiótico *livre* nesse tecido (C_f). Duas considerações são importantes: (1) as concentrações total e livre estão em equilíbrio entre si; e (2) somente o xenobiótico livre pode entrar e deixar o tecido. Embora a concentração total seja mensurada experimentalmente, é a concentração livre que está disponível para a ligação proteica, a biotransformação ou a remoção do tecido pelo sangue. A partição de um xenobiótico no tecido é diretamente dependente da composição do tecido e independente da concentração do xenobiótico. Dessa forma, a relação entre a concentração livre e a concentração total do xenobiótico segue uma proporcionalidade: total = livre x coeficiente de partição, ou $C_t = C_f P_t$. O conhecimento do valor de P_t, o *coeficiente de partição* ou de *distribuição*, permite o cálculo indireto da concentração livre do xenobiótico, ou $C_f = C_f/P_t$.

TABELA 7.1 Coeficientes de partição para quatro xenobióticos voláteis em diferentes tecidos

Xenobiótico	Sangue/Ar	Músculo/Sangue	Gordura/Sangue
Isopreno	3	0,67	24
Benzeno	18	0,61	28
Estireno	40	1	50
Metanol	1.350	3	11

A Tabela 7.1 compara os coeficientes de partição de vários xenobióticos orgânicos e voláteis. Os xenobióticos com os maiores valores de coeficientes de partição gordura/sangue são distribuídos em maior extensão no tecido adiposo do que em outros tecidos.

Uma relação mais complexa entre a concentração livre e a concentração total do xenobiótico ocorre nas situações de interação com sítios de ligação saturáveis dos tecidos. Nesses casos, torna-se necessário o emprego de funções não lineares relacionando a concentração livre com a concentração total do xenobiótico no tecido.

Transporte A passagem de um xenobiótico através de uma membrana biológica é complexa e pode ocorrer por difusão passiva, transporte mediado por proteínas transportadoras, transporte facilitado ou pela combinação desses processos. O mais simples desses processos – a difusão passiva – é um processo de primeira ordem. A difusão dos xenobióticos pode ocorrer através das membranas dos capilares sanguíneos ($Fluxo_1$, Fig. 7.3) ou das membranas celulares ($Fluxo_2$, Fig. 7.3). Na difusão passiva, o fluxo (mg/h) de um lado da membrana para o outro é descrito como Fluxo = coeficiente de permeabilidade × força motriz, ou:

$$\text{Fluxo} = [\text{PA}](C_1 - C_2) = [\text{PA}]C_1 - [\text{PA}]C_2$$

O coeficiente de permeabilidade [PA] é denominado como o *produto da permeabilidade por área* da membrana (L/h), ou seja, o produto entre a constante de permeabilidade para um determinado xenobiótico na membrana celular (P, μm/h) e a área total da membrana (A, μm^2). A constante de permeabilidade leva em consideração a velocidade de difusão do xenobiótico e a espessura da membrana celular. As C_1 e C_2 representam a concentração *livre* do xenobiótico em cada lado da membrana. Para um dado xenobiótico, a difusão é maior quanto menor a espessura da membrana, maior a área superficial e maior o gradiente de concentração.

As duas *condições limitantes* para o transporte de xenobióticos através das membranas são a *perfusão e a difusão.*

Compartimentos limitados pela perfusão

Um compartimento limitado pela perfusão também é referido como *limitado pelo fluxo sanguíneo*, ou simplesmente *limitado pelo fluxo*. Um compartimento limitado pelo fluxo ocorre quando o coeficiente de permeabilidade [PA] do xenobiótico na membrana celular for muito maior do que o fluxo sanguíneo para o tecido (Q_t). Nesse caso, a distribuição do xenobiótico para os subcompartimentos teciduais é limitada pelo fluxo sanguíneo que chega ao tecido, e não pela velocidade com a qual o xenobiótico atravessa a membrana celular. Na maioria dos tecidos, o transporte através da membrana celular dos vasos sanguíneos é limitado pela perfusão. Isso significa que o transporte do xenobiótico através da parede dos capilares sanguíneos da maioria dos tecidos é rápido quando comparado com a difusão do xenobiótico do sangue para o tecido, como representado no compartimento tecidual descrito na Figura 7.4. Dessa forma, o sangue está em equilíbrio com o subcompartimento intersticial, e os dois subcompartimentos são normalmente simplificados em um único compartimento, geralmente denominado como *espaço extracelular.*

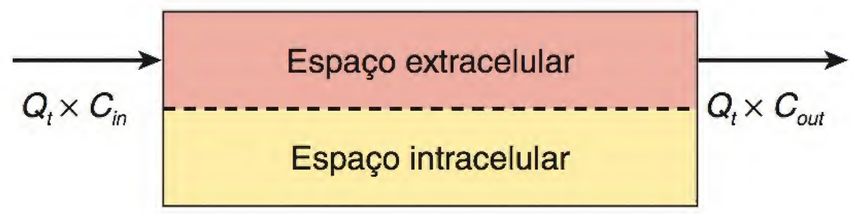


FIGURA 7.4 Representação esquemática de um compartimento limitado pelo fluxo sanguíneo. O equilíbrio entre o espaço extracelular (*salmão*) e o espaço intracelular (*amarelado*) é mantido pelas rápidas trocas entre eles, como simbolizado pela linha tracejada. Q_t representa o fluxo sanguíneo, C_{in} representa a concentração do xenobiótico que entra no compartimento e C_{out}, a concentração do xenobiótico que deixa o compartimento.

A membrana celular separa o compartimento extracelular do compartimento intracelular, como indicado na Figura 7.4. A membrana celular é a barreira de difusão mais importante em um tecido. No entanto, a permeabilidade celular não é limitante na velocidade com a qual as moléculas muito pequenas (peso molecular < 100) ou lipofílicas atravessam as membranas celulares. O fluxo dessas moléculas de um lado da membrana para o outro é muito maior do que o fluxo sanguíneo ([PA] >> Q_t), portanto os compartimentos intra e extracelular estão em equilíbrio, sendo geralmente classificados como um compartimento único. Esse compartimento tecidual limitado pelo fluxo é mostrado na Figura 7.4. O movimento de entrada e saída do xenobiótico do compartimento tecidual pode ser descrito por uma única equação:

$$V_t \frac{dC_t}{dt} = Q_t(C_{in} - C_{out})$$

na qual V_t representa o volume do compartimento tecidual, C_t, a concentração livre do xenobiótico no compartimento (V_tC_t corresponde à quantidade do xenobiótico no compartimento), V_t (dC_t/dt), a velocidade de alteração na quantidade do xenobiótico no compartimento em função do tempo expressa em termos de massa por unidade de tempo, Q_t o fluxo sanguíneo para o tecido, C_{in}, a concentração do xenobiótico que entra no compartimento, e C_{out}, a concentração de xenobiótico que deixa o compartimento. De acordo com o modelo fisiológico, essas equações *diferenciais* de equilíbrio de massas requerem que a entrada de um termo na equação esteja em equilíbrio com sua saída na outra equação.

No caso de compartimentos limitados pela perfusão, C_{out}, ou a concentração venosa do xenobiótico que deixa o tecido, corresponde à concentração livre do xenobiótico no tecido, C_f. Como observado anteriormente, a C_f (ou C_{out}) pode estar relacionada à concentração total do xenobiótico no tecido por meio de um simples coeficiente de partição linear, $C_{out} = C_f = C_t/P_t$. Nesse caso, a equação diferencial que descreve a velocidade de alteração da quantidade de um xenobiótico no tecido pode ser descrita como

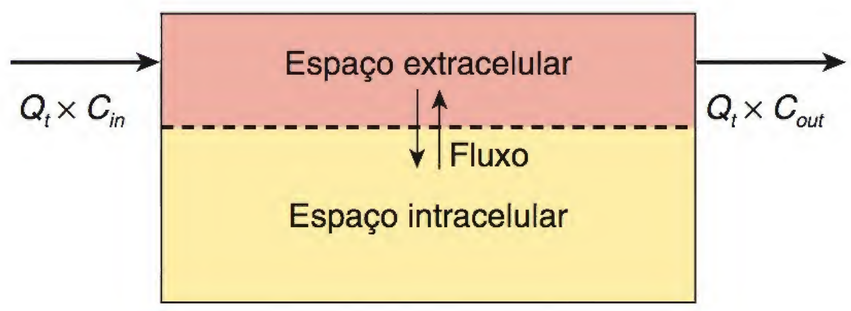


FIGURA 7.5 Representação esquemática de um compartimento limitado pela membrana. As setas em negrito representam a perfusão sanguínea entrando e deixando o compartimento extracelular. O transporte transmembrana (fluxo) do subcompartimento extracelular para o subcompartimento intracelular é representado pelas setas finas. Q_t representa o fluxo sanguíneo, C_{in}, a concentração do xenobiótico que entra no compartimento, e C_{out}, a concentração do xenobiótico que deixa o compartimento.

$$V_t \frac{dC_t}{dt} = Q_t \left(C_{in} - \frac{C_t}{P_t} \right)$$

Em compartimentos limitados pelo fluxo, considera-se que as concentrações do xenobiótico estão em equilíbrio em todas as partes do tecido. Além disso, as estimativas de fluxo do xenobiótico de um lado da membrana para o outro não são necessárias para desenvolver as equações diferenciais de equilíbrio de massas. Essa consideração simplificada reduz de forma significativa o número de parâmetros requeridos no modelo fisiológico.

Compartimentos limitados pela difusão

Em um compartimento *limitado pela difusão* ou *limitado pela membrana,* a distribuição do xenobiótico é dependente da permeabilidade e da área total da membrana celular. O transporte limitado pela difusão ocorre quando o fluxo do xenobiótico de um lado da membrana para o outro é baixo ao ser comparado com o fluxo sanguíneo para o tecido. Nesse caso, o produto da permeabilidade por área da membrana é pequeno quando comparado ao fluxo sanguíneo, ou PA << Q_t. A Figura 7.5 mostra a estrutura de tal compartimento. As concentrações do xenobiótico nos espaços intersticial e vascular estão em equilíbrio, compondo o subcompartimento extracelular no qual a distribuição do xenobiótico é limitada pelo fluxo. A passagem do xenobiótico através da membrana celular (do espaço extracelular para o espaço intracelular) é limitada pela permeabilidade da membrana celular e, portanto, limitada pela difusão. Esse compartimento pode ser descrito por duas equações diferenciais de equilíbrio de massas:

1. Espaço extracelular:

$$V_1 \frac{dC_1}{dt} = Q_t (C_{in} - C_{out}) - [PA]C_1 + [PA]C_2$$

2. Espaço intracelular:

$$V_2 \frac{dC_2}{dt} = [PA]C_1 - [PA]C_2$$

Q_t representa o fluxo sanguíneo e C representa a concentração *livre* do xenobiótico no sangue de entrada (*in*), no sangue de saída (*out*), no espaço extracelular (1) ou no espaço intracelular (2). Ambas as equações contêm termos para o fluxo ou transferência do xenobiótico através da membrana celular [PA] (C_1-C_2).

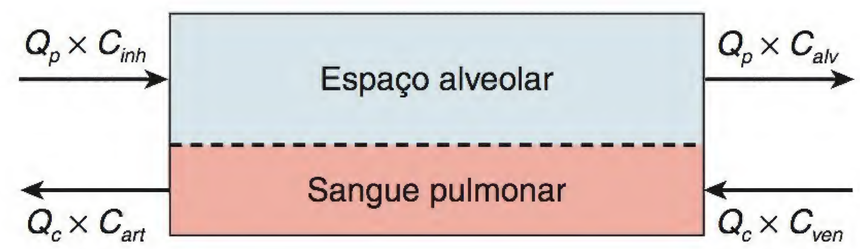


FIGURA 7.6 Modelo simplificado de trocas gasosas na região alveolar do trato respiratório. No compartimento pulmonar simplificado, a rápida troca do xenobiótico entre o gás alveolar (*azul*) e o sangue pulmonar (*salmão*) mantém o equilíbrio entre eles, como simbolizado pela linha tracejada. Q_p representa a ventilação alveolar (L/h); Q_c, o débito cardíaco (L/h); C_{inh}, a concentração do vapor inalado (mg/L); C_{art}, a concentração do vapor no sangue arterial; C_{ven}, a concentração do vapor no sangue venoso. A relação de equilíbrio do xenobiótico entre o ar alveolar (C_{alv}) e o sangue arterial (C_{art}) é determinada pelo coeficiente de partição sangue/ar P_b, como, por exemplo, $C_{alv} = C_{art}/P_b$.

Compartimentos especializados

Pulmões A inclusão de um compartimento representando os pulmões é de considerável importância nos modelos com base fisiológica, uma vez que a inalação é uma via de exposição comum a muitos xenobióticos.

Os conceitos inerentes na descrição do compartimento pulmonar são: (1) a ventilação é contínua, e não cíclica; (2) as vias aéreas comportam-se como tubos inertes, carregando o vapor para a região de trocas gasosas; (3) a difusão do vapor através das células pulmonares e das paredes dos capilares é limitada pela perfusão; (4) a fração do xenobiótico removida do ar inspirado é transferida para o sangue arterial (ou seja, não há armazenamento do xenobiótico no tecido pulmonar); e (5) o xenobiótico presente no ar alveolar entra em rápido equilíbrio com o sangue arterial dentro do compartimento pulmonar.

A velocidade de inalação de um xenobiótico é controlada pela ventilação (Q_p) e pela concentração inalada (C_{inh}), como ilustrado no compartimento pulmonar da Figura 7.6. A velocidade de eliminação do xenobiótico no ar exalado é o produto entre a ventilação e a concentração do xenobiótico no alvéolo pulmonar (C_{alv}). Os xenobióticos também podem entrar no compartimento pulmonar pelo sangue venoso que retorna do coração, podendo ser representado pelo produto entre o débito cardíaco (Q_c) e a concentração do xenobiótico no sangue venoso (C_{ven}). A remoção do xenobiótico dos pulmões para o sangue é dependente do débito cardíaco e da concentração do xenobiótico no sangue arterial (C_{art}). A velocidade de alteração na quantidade do xenobiótico no compartimento pulmonar (L) pode ser escrita pela equação diferencial de equilíbrio de massas:

$$\frac{dL}{dt} = Q_p (C_{inh} - C_{alv}) + Q_c (C_{ven} - C_{art})$$

Tendo em vista essas considerações, no estado de equilíbrio, a velocidade de alteração na quantidade do xenobiótico no compartimento pulmonar torna-se igual a zero ($dL/dt = 0$). A C_{alv} pode ser substituída por C_{art}/P_b, e a equação diferencial para o

cálculo da concentração do xenobiótico no sangue arterial pode ser descrita como:

$$C_{art} = \frac{Q_p C_{inh} + Q_c C_{ven}}{Q_c + (Q_p / P_b)}$$

Os pulmões são vistos aqui como uma porta de entrada, e não como um órgão-alvo, sendo de principal interesse a concentração do xenobiótico distribuída do sangue para os outros órgãos ou a concentração do xenobiótico no sangue arterial.

Fígado Nos modelos com base fisiológica, o fígado é normalmente representado como um compartimento, uma vez que a biotransformação hepática é de considerável importância na toxicocinética de muitos xenobióticos. Considera-se que a estrutura compartimental do fígado seja limitada pelo fluxo sanguíneo e seja similar ao compartimento tecidual representado na Figura 7.4, com exceção de que o compartimento do fígado contém uma etapa adicional que representa a eliminação por biotransformação. A eliminação de primeira ordem é uma das expressões mais simples desse processo:

$$R = C_f V_1 K_f$$

no qual R representa a velocidade de biotransformação (mg/h), C_f, a concentração livre do xenobiótico no fígado (mg/L), V_1, o volume do fígado (L), e K_f, a constante de velocidade de primeira ordem para a biotransformação (h^{-1}).

A expressão de Michaelis-Menten para *biotransformação saturável*, a qual emprega dois parâmetros, V_{max} e K_M, é descrita nos modelos com base fisiológica como:

$$R = \frac{V_{max} C_f}{K_M + C_f}$$

na qual V_{max} representa a velocidade máxima da biotransformação (mg/h) e K_M representa a constante de Michaelis-Menten, ou a concentração do xenobiótico na qual a velocidade da biotransformação corresponde à metade da velocidade máxima (mg/L). Essa equação é um fator-chave no sucesso dos modelos com base fisiológica empregados na simulação da disposição de xenobióticos em diferentes doses, uma vez que muitos xenobióticos são biotransformados por enzimas saturáveis.

Os modelos com base fisiológica também podem incorporar expressões mais complexas para a biotransformação. Podem, também, ser empregados para simular reações de segunda ordem envolvendo mais de um substrato, reações envolvendo a inativação da enzima, a inibição da enzima e a depleção de cofatores. A biotransformação também pode ser incluída em outros compartimentos de maneira similar como descrita para o fígado.

CONCLUSÃO

Os estudos dos modelos com base fisiológica estão em rápida expansão. Algumas das mais recentes aplicações desses modelos incluem a avaliação do xenobiótico inalterado conectado em série com um ou mais produtos de biotransformação ativos, a descrição de interações bioquímicas entre xenobióticos e as descrições biologicamente mais realistas de tecidos anteriormente considerados como simples compartimentos. Por fim, os modelos da *toxicocinética* com base fisiológica estão começando a ser correlacionados com a *toxicodinâmica* com base biológica de forma a simular o paradigma básico da toxicologia, ou seja, exposição → dose → resposta.

REFERÊNCIAS

Andersen ME: Toxicokinetic modeling and its applications in chemical risk assessment. *Toxicol Lett* 138:9–27, 2003.

Brown RP, Delp MD, Lindstedt SL, et al: Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models. *Toxicol Ind Health* 13(4):407–484, 1997.

Lipscomb JC, Ohanian EV: *Toxicokinetics and Risk Assessment*. New York: Informa Healthcare, 2007.

Tozer TN, Rowland M: *Introduction to Pharmacokinetics and Pharmacodynamics: The Quantitative Basis of Drug Therapy*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2006.

QUESTÕES

1. Em relação ao modelo bicompartimental da toxicocinética clássica, qual das seguintes afirmações é verdadeira?
   a. O equilíbrio do xenobiótico entre os compartimentos central e periférico é rápido.
   b. O gráfico semi-logarítmico da concentração plasmática *versus* tempo resulta em uma relação linear.
   c. Existe mais de um processo de disposição cinética.
   d. A concentração do xenobiótico é considerada a mesma em todo o organismo.
   e. A dose efetiva não pode ser determinada nos estudos de toxicidade.

2. Quando calculamos a fração da dose que permanece no organismo ao longo do tempo, qual dos seguintes fatores não deve ser considerado?
   a. Meia-vida
   b. Concentração inicial
   c. Tempo
   d. Concentração presente
   e. Constante de velocidade de eliminação

3. Todas as sentenças abaixo relacionadas ao volume de distribuição aparente (V_d) estão corretas, exceto:
   a. O V_d relaciona a quantidade total do xenobiótico no organismo com a concentração no plasma.
   b. O V_d é o espaço aparente no qual a quantidade do xenobiótico é distribuída no organismo, resultando em uma determinada concentração plasmática.
   c. Um xenobiótico que permanece no plasma apresenta baixo V_d.
   d. O V_d será baixo para um xenobiótico com alta afinidade para os tecidos.
   e. O V_d pode ser usado para estimar a quantidade do xenobiótico no organismo se a concentração plasmática for conhecida.

4. O *clearance* de um xenobiótico:
   a. É independente do V_d.
   b. Não é alterado pela insuficiência renal.
   c. É indiretamente proporcional ao V_d.
   d. É realizado por diversos órgãos.
   e. Não ocorre no trato gastrintestinal.

5. Para um xenobiótico permanecer no organismo por um período de tempo maior, quando administrado na mesma dose, deve apresentar qual das seguintes meias-vidas ($T_{1/2}$)?
   a. $T_{1/2} = 30$ min
   b. $T_{1/2} = 1$ dia
   c. $T_{1/2} = 7$ h
   d. $T_{1/2} = 120$ s
   e. $T_{1/2} = 1$ mês

6. Em relação à eliminação de primeira ordem, qual das seguintes sentenças é FALSA?
   a. A velocidade de eliminação é diretamente proporcional à quantidade do xenobiótico no organismo.
   b. O gráfico semi-logarítmico concentração plasmática *versus* tempo mostra uma relação linear.
   c. A meia-vida ($T_{1/2}$) é dependente da dose.
   d. O *clearance* não depende da dose.
   e. A concentração plasmática e a concentração tecidual são reduzidas em paralelo de acordo com a constante de velocidade de eliminação.

7. A toxicidade é dependente da quantidade do xenobiótico que atinge a circulação sistêmica. Qual dos seguintes fatores NÃO influencia em grande extensão a biodisponibilidade sistêmica do xenobiótico?
   a. A absorção após a administração oral
   b. A motilidade intestinal
   c. O efeito de primeira passagem hepático
   d. O efeito de primeira passagem intestinal
   e. A incorporação em micelas

8. Qual das situações abaixo NÃO representa uma vantagem dos modelos toxicocinéticos com base fisiológica?
   a. Facilidade de adaptação de regimes de dosagem complexos
   b. Obtenção do perfil de distribuição do xenobiótico em função do tempo para qualquer órgão
   c. Estimativa das alterações nas concentrações do xenobiótico no tecido em função de alterações nos parâmetros fisiológicos
   d. Cálculo das constantes de velocidade a partir dos dados obtidos
   e. Previsão da toxicocinética do xenobiótico entre diferentes espécies usando um mesmo modelo

9. Qual das seguintes situações não contribui para o aumento da difusão de um xenobiótico através de uma membrana biológica?
   a. A diminuição do tamanho
   b. A diminuição do coeficiente de partição óleo:água
   c. O aumento do gradiente de concentração
   d. O aumento da área superficial
   e. A diminuição da espessura da membrana

10. Considerando os compartimentos limitados pela difusão, qual das sentenças abaixo é verdadeira?
    a. O transporte do xenobiótico através da membrana celular é limitado pela velocidade na qual o sangue chega ao tecido.
    b. Os compartimentos limitados pela difusão são também referidos como compartimentos limitados pelo fluxo.
    c. O aumento da espessura da membrana pode tornar a distribuição do xenobiótico limitada pela difusão.
    d. O equilíbrio entre o espaço extracelular e o intracelular é mantido por trocas rápidas entre os dois compartimentos.
    e. A difusão de gases através do septo alveolar de um pulmão sadio é limitada pela difusão.

UNIDADE III TOXICIDADE NONORGAN – TOXICIDADE NÃO DIRIGIDA A ÓRGÃOS ESPECÍFICOS

CAPÍTULO

8

Carcinogênese Química

James E. Klaunig e Lisa M. Kamendulis

RESUMO
- **Definições**

MÚLTIPLAS ETAPAS DA CARCINOGÊNESE
- **Iniciação**
- **Promoção**
- **Progressão**

MECANISMOS DE AÇÃO DE CARCINÓGENOS QUÍMICOS
- **Carcinógenos genotóxicos**
  - Carcinógenos diretos (ativação-independente)
  - Carcinógenos genotóxicos indiretos
- **Mutagênese**
- **Danos causados por alquilantes eletrofílicos**
- **Reparo do DNA**
- **Mecanismos de reparo do DNA**
  - Reparo de pareamento incorreto
  - Reparo por excisão
  - Recombinação homóloga
- **Classes de carcinógenos genotóxicos**
  - Hidrocarbonetos poliaromáticos
  - Agentes alquilantes
  - Aminas aromáticas e amidas
- **Carcinógenos inorgânicos**
- **Carcinógenos não genotóxicos (epigenéticos)**
  - Citotoxicidade
  - Respostas mediadas por receptor
  - Modo de ação hormonal
  - Metilação do DNA e carcinogênese
  - Estresse oxidativo e carcinogênese química
- **Junções de comunicantes do tipo hiato (gap junction)**
- **Polimorfismos envolvidos no metabolismo de carcinógenos e no sistema de reparo do DNA**
- **Proto-oncogenes e genes supressores de tumor**
  - Retrovírus
  - Vírus de DNA
  - Proto-oncogenes
  - Genes supressores de tumor
- **Efeito *hormesis* e carcinogênese**
- **Quimioprevenção**

TESTES PARA AVALIAÇÃO DA CARCINOGENICIDADE
- **Testes de curta duração para mutagenicidade**
  - Testes de mutação gênica *in vitro*
  - Testes para avaliação de mutação gênica *in vivo*
  - Alterações cromossômicas
  - Danos ao DNA
  - Ensaios de transformação
- **Testes de longa duração para avaliação carcinogenicidade**
  - Bioensaio crônico (2 anos)
  - Bioensaios órgão-específicos e modelos de múltiplas etapas em animais
- **Uso de animais transgênicos para avaliação de carcinogenicidade**

CARCINOGÊNESE QUÍMICA EM SERES HUMANOS
- **Avaliação da classificação da carcinogenicidade em seres humanos**

PONTOS-CHAVE

- O termo *câncer* refere-se a um conjunto de lesões neoplásicas.
- Uma *neoplasia* é definida como uma alteração herdável, com proliferação do tecido relativamente autônoma e regulação da expressão gênica anormal.
- *Metástases* são proliferações celulares secundárias a partir de uma neoplasia primária.
- Um *carcinógeno* é um agente cuja administração a animais previamente não tratados provoca aumento estatisticamente significativo de neoplasias, de um ou mais tipos histogenéticos, quando comparado à incidência em animais não tratados.
- A *iniciação* requer um ou mais ciclos de proliferação celular para que o dano no DNA seja fixado.
- A *promoção* é o resultado do aumento seletivo de células iniciadas e de sua progênie pela exposição contínua a agentes promotores.
- A *progressão* consiste na transição de uma progênie de células iniciadas para uma população celular biologicamente maligna, conhecida por neoplasia.

RESUMO

O câncer é uma doença que envolve mutação, proliferação e crescimento celular anormal. Atualmente, é considerada uma das maiores causas de morte no mundo. Múltiplas causas para o desenvolvimento do câncer têm sido estabelecidas ou sugeridas, incluindo agentes infecciosos, radiação e substâncias químicas. Estimativas sugerem que 70 a 90% de todos os casos de câncer em seres humanos têm alguma ligação ao ambiente, à dieta e a fatores comportamentais.

Definições

Na Tabela 8.1, encontram-se as definições dos termos normalmente utilizados em carcinogênese química. Para neoplasias benignas, o tecido de origem é frequentemente seguido pelo sufixo "oma"; por exemplo, uma neoplasia benigna do tecido fibroso pode ser descrita como *fibroma*, e uma neoplasia benigna do epitélio glandular pode ser descrita como *adenoma*. Neoplasias malignas de origem epitelial são chamadas de *carcinomas*, enquanto as de origem mesenquimal são conhecidas como *sarcomas*. Assim, as neoplasias malignas derivadas de tecido fibroso são conhecidas como *fibrossarcomas*, e as derivadas de tecido ósseo são *osteossarcomas*.

Carcinógenos podem ser *genotóxicos*, ou seja, podem interagir fisicamente com o DNA ocasionando danos ou alterando sua estrutura. Outros carcinógenos podem alterar a maneira como o DNA irá expressar a informação sem modificar ou danificar sua estrutura, ou, ainda, podem criar situações que fazem a célula ou o tecido se tornarem mais suscetíveis a danos no DNA. Carcinógenos químicos que se enquadram nesta última categoria são conhecidos como carcinógenos *não genotóxicos*. Na Tabela 8.2, encontram-se características comuns de carcinógenos genotóxicos e não genotóxicos.

MÚLTIPLAS ETAPAS DA CARCINOGÊNESE

O processo de carcinogênese envolve uma série de etapas definíveis e reprodutíveis. Teoricamente, essas etapas foram definidas como iniciação, promoção e progressão (Fig. 8.1).

TABELA 8.1 Terminologia

Neoplasia	Novo crescimento ou crescimento autônomo do tecido
Neoplasma	A lesão resultante da neoplasia
Lesões benignas	Lesões caracterizadas por proliferação expansiva, frequentemente exibindo baixas taxas de proliferação e que não invadem os tecidos circundantes
Lesões malignas	Lesões de crescimento invasivo, capazes de metástases para outros tecidos e órgãos
Metástase	Crescimento secundário derivado de uma neoplasia maligna primária
Tumor	Lesão caracterizada por edema ou aumento do tamanho, pode ou não ser neoplásica.
Câncer	Neoplasia maligna
Carcinógeno	Um agente físico ou químico que causa ou induz neoplasia
Genotóxico	Carcinógenos que interagem com o DNA resultando em mutação
Não genotóxicos	Carcinógenos que modificam a expressão gênica, mas não causam danos ao DNA

TABELA 8.2 Características de carcinógenos genotóxicos e não genotóxicos

Carcinógenos genotóxicos • Mutagênicos • Podem ser carcinógenos completos • Carcinogenicidade dose-responsiva • Sem limite teórico estabelecido
Carcinógenos não genotóxicos • Não mutagênicos • Limites reversíveis • Carcinogenicidade dose-responsiva • Podem atuar no estágio de promotores de tumores • Não causam danos diretos ao DNA • Espécie, etnia e tecido específicos

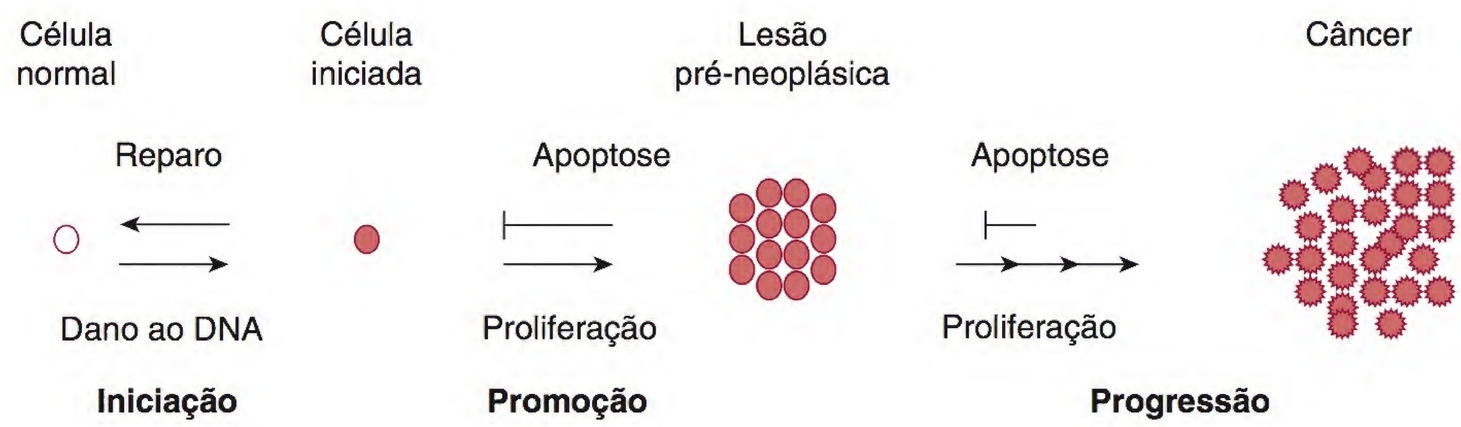


FIGURA 8.1 Modelo de múltiplas etapas da carcinogênese.

Iniciação

A primeira etapa da carcinogênese, a *iniciação*, é considerada uma etapa herdável e estável. Consiste em um processo rápido e irreversível resultante da ação mutagênica de um carcinógeno. Agentes químicos e físicos que interagem com componentes celulares durante essa etapa são conhecidos como agentes iniciantes ou iniciadores. Agentes iniciantes levam a alterações genéticas, incluindo mutações e deleções. Carcinógenos químicos que estabelecem ligações covalentes com o DNA e formam adutos que resultam em mutações são classificados como agentes iniciantes. A iniciação torna-se definitiva quando o dano ao DNA não é corrigido ou reparado completamente antes da síntese do DNA e da divisão celular.

Uma vez que as células iniciadas são formadas, seu destino aponta para várias direções possíveis: (1) a célula iniciada pode permanecer estática (não proliferar); (2) a célula iniciada pode ter adquirido mutações incompatíveis com a viabilidade e/ou funções normais, podendo, assim, ser eliminada por mecanismos apoptóticos; ou (3) a célula pode iniciar o ciclo de divisão celular e proliferar.

Promoção

A segunda etapa da carcinogênese envolve a expansão clonal das células iniciadas para o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas. Essa etapa é referida como etapa de *promoção* da carcinogênese. Agentes exógenos e endógenos que atuam nessa etapa são conhecidos como agentes promotores. Agentes promotores atuam por meio de diversos mecanismos envolvendo alterações na expressão gênica que estimulam a proliferação celular e inibem a apoptose. A promoção é reversível quando se remove o estímulo promotor, e as lesões pré-neoplásicas podem, então, regredir a células únicas iniciadas. Além disso, esses agentes apresentam limites bem definidos. Abaixo de certa dose ou frequência de exposição, os agentes promotores não são capazes de induzir a proliferação celular. Agentes promotores geralmente apresentam efeitos órgão-específicos; o agente promotor do fígado, por exemplo, o fenobarbital, não irá atuar como agente promotor na pele ou em outros tecidos.

Progressão

A *progressão* envolve a conversão de lesões pré-neoplásicas em neoplásicas, ou seja, em câncer. Nessa etapa, devido ao aumento da síntese de DNA e da proliferação celular das lesões pré-neoplásicas, outros eventos genotóxicos podem ocorrer, resultando em mais danos ao DNA, incluindo aberrações cromossômicas e translocações. A etapa de progressão é irreversível na formação de neoplasias, sejam benignas ou malignas. Nessa etapa, as células param de responder aos estímulos de controle de crescimento, e ocorre proliferação celular autônoma. A progressão espontânea pode ocorrer a partir de alterações cariotípicas espontâneas que ocorrem em células mitoticamente ativas iniciadas durante a etapa de promoção. A acumulação de aberrações cromossômicas não randômicas e a instabilidade cariotípica são características dessa etapa.

MECANISMOS DE AÇÃO DE CARCINÓGENOS QUÍMICOS

O desenvolvimento de neoplasias requer dois grandes eventos: a formação de células mutadas e iniciadas e a proliferação celular seletiva dessas células para formar a neoplasia. Substâncias químicas que induzem o câncer têm sido classificadas em duas categorias – carcinógenos genotóxicos ou reativos com DNA e carcinógenos não genotóxicos ou epigenéticos – com base em sua habilidade de interagir com o DNA genômico.

Carcinógenos genotóxicos

Carcinógenos genotóxicos são agentes iniciantes que causam danos ao DNA. Podem ser subdivididos de acordo com sua reatividade, isto é, carcinógenos diretos – aqueles que se ligam diretamente ao DNA sem serem previamente metabolizados –, e carcinógenos indiretos – aqueles que requerem metabolização para se tornarem reativos com o DNA.

Carcinógenos diretos (ativação-independente) Carcinógenos diretos são moléculas eletrofílicas altamente reativas que podem se ligar e interagir com moléculas nucleofílicas, como o DNA. A exposição a essas substâncias químicas altamente reativas resulta, com frequência, na formação de neoplasias no local exposto.

A efetividade de carcinógenos diretos depende, em parte, da capacidade de interação entre a substância química e o DNA genômico, bem como de sua reatividade com outras moléculas nucleofílicas. A estabilidade da substância química, o transpor-

te e a capacidade de permeabilidade através das membranas celulares irão determinar sua atividade carcinogênica. Carcinógenos diretos podem atuar em múltiplos locais e em todas as espécies.

Carcinógenos genotóxicos indiretos A maioria dos carcinógenos que reagem com o DNA é composta por aqueles encontrados como substância de origem ou pró-carcinógenos, ou seja, substâncias químicas que precisam ser metabolizadas para se tornarem carcinogênicas. Foram definidos termos específicos para diferenciar pró-carcinógenos e seu metabólito, carcinógenos intermediários (carcinógeno próximo) e carcinógeno final, que reage com o DNA. Carcinógenos finais são as espécies químicas que causam mutação e transformação neoplásica. Além da ativação de pró-carcinógenos à forma reativa com DNA, vias de detoxificação também podem ocorrer, resultando na inativação de carcinógenos.

Carcinógenos de ação genotóxica indireta geralmente produzem seus efeitos neoplásicos nos tecidos específicos nos quais são metabolizados, e não no local de exposição (como acontece com carcinógenos de ação genotóxica direta).

Mutagênese

A mutação ocorrerá dependendo de quando, durante o ciclo celular, os adutos são formados, de onde os adutos são formados e do tipo de reparo usado em resposta ao dano ao DNA. A mutagênese pode ser resultado de erro de leitura do DNA ou quebra das fitas de DNA.

Danos causados por alquilantes eletrofílicos

Substâncias eletrofílicas podem formar ligações covalentes com moléculas nucleofílicas. Os elétrons não pareados nos átomos S, O e N são alvos nucleofílicos para moléculas eletrofílicas. Em geral, moléculas altamente eletrofílicas apresentam muitos alvos nucleofílicos, enquanto moléculas pouco eletrofílicas são capazes de alquilar apenas moléculas altamente nucleofílicas.

Nucleófilos estão presentes não somente nas bases de DNA, como também no esqueleto fosfodiéster. Assim, carcinógenos eletrofílicos podem atuar em diferentes locais do DNA causando diferentes danos.

Outra modificação comum no DNA é a hidroxilação de bases do DNA. Adutos que causam danos oxidativos no DNA podem ser encontrados nas quatro diferentes bases nitrogenadas. Danos oxidativos no DNA são ocasionados por meio de reação com radicais livres produzidos endógena ou exogenamente.

A metilação do DNA resulta em expressão ou repressão gênica herdável, sendo que a hipometilação está relacionada à ativação da transcrição gênica, e a hipermetilação, ao silenciamento transcricional. Carcinógenos químicos podem inibir a metilação por meio de ligação covalente e formação de adutos, causando quebra de fita simples do DNA, alterando a quantidade de metionina disponível e inativando as enzimas DNA metiltransferase, que são responsáveis pela metilação. Se um aduto de DNA irá resultar ou não em mutação depende, em parte, do processo de duplicação do DNA e, em parte, do processo de reparo do DNA.

Reparo do DNA

Após a formação do aduto no DNA, a persistência deste é o principal determinante do desfecho. Essa persistência depende da habilidade da célula de reparar o DNA alterado. Entretanto, a presença do aduto não é suficiente para que o processo de carcinogênese ocorra. A taxa relativa ou a persistência de adutos em particular pode ser um importante determinante de carcinogenicidade. Diferenças na suscetibilidade à carcinogênese são, provavelmente, resultantes de inúmeros fatores, incluindo a replicação do DNA em um determinado tecido e reparo de um aduto do DNA. O desenvolvimento de câncer após a exposição a carcinógenos químicos é um evento relativamente raro devido à capacidade que as células têm de reconhecer e reparar os danos no DNA. Para que o reparo seja efetivo, ele deve ocorrer antes de a célula se dividir.

Mecanismos de reparo do DNA

Apesar de as células apresentarem mecanismos para reparar diferentes tipos de danos ao DNA, estes nem sempre são totalmente efetivos, e danos residuais ao DNA podem provocar a síntese de proteínas alteradas. Mutações em oncogenes, genes supressores de tumores ou genes que controlam o ciclo celular podem resultar em expansão clonal das células iniciadas com vantagem de sobrevivência.

As células apresentam diversos mecanismos para reparar danos ao DNA. Estes nem sempre ocorrem antes de a célula proliferar, e o uso de substâncias químicas para reparar o DNA é relativamente ineficiente.

Reparo de pareamento incorreto Muitas mutações espontâneas são mutações pontuais, ou seja, uma alteração de uma única base da sequência do DNA. A depurinação é o evento mais comum e espontâneo em mamíferos e resulta na formação de sítios apurínicos. Todas as células de mamíferos apresentam endonucleases apurínicas que funcionam cortando o DNA em região próxima aos sítios apurínicos. O corte é estendido por exonucleases, e a falha resultante será corrigida por enzimas DNA polimerases e DNA ligases.

Reparo por excisão Regiões do DNA contendo bases quimicamente modificadas ou adutos são, em geral, reparadas por processos de reparo por excisão. Proteínas deslizam sobre a dupla fita do DNA e reconhecem irregularidades na estrutura dupla-hélice, e então, realizam o reparo.

Recombinação homóloga Uma célula que tem quebra na dupla fita do DNA pode ser reparada por ligação de extremidades não coesivas. A ligação de fitas quebradas em diferentes cromossomos pode levar a translocações de fragmentos do DNA de um cromossomo para outro, e isso pode provocar uma proliferação celular anormal. A recombinação homóloga é um dos dois mecanismos responsáveis por reparar quebra em fita dupla. Nesse processo, a quebra em fita dupla em um cromossomo é reparada usando a informação do cromossomo homólogo intacto.

O mecanismo de reparo de quebra de fita dupla mais comum em organimos multicelulares é o não homólogo, que envolve a ligação das extremidades terminais de duas moléculas de DNA. Apesar de esse processo restaurar a fita dupla da molécula, mui-

TABELA 8.3 Carcinogenicidade de metais

Animal				Humana	
Metais	**Espécies**	**Local da neoplasia**	**Tipo de neoplasia**	**Exposição**	**Tipo de neoplasia**
Arsênio	Camundongos, cachorros, ratos	Não observado	Não observado	Refinaria de cobre Agrotóxicos arsenicais Indústrias químicas Água para consumo (oral)	Carcinoma de pulmão Linfoma, leucemia Carcinoma de pele Angiossarcoma hepático
Berílio	Camundongos, ratos, macacos	Ossos Pulmão	Osteossarcoma Carcinoma	Não observada	Não observado
Cádmio	Camundongos, ratos, frangos	Locais de injeção Testículos	Sarcoma Teratoma	Refinaria de cádmio	Pulmonar
Cromo	Camundongos, ratos, coelhos	Locais de injeção Pulmão	Sarcoma Carcinoma	Refinaria de cromo Galvanoplastia de cromo Pigmentos cromados	Carcinoma pulmonar Carcinoma gastrintestinal
Cobalto	Ratos, coelhos	Locais de injeção	Sarcoma	Não observada	Não observado
Ferro	*Hamsters*, camundongos, ratos, coelhos	Locais de injeção	Sarcoma	Não observada	Não observado
Chumbo	Camundongos, ratos	Rim	Carcinoma	Não observada	Não observado
Níquel	Camundongos, ratos, gatos, *hamsters*, coelhos, porquinhos-da-índia	Locais de injeção Pulmão Rim	Carcinoma Carcinoma Carcinoma	Refinaria de níquel	Carcinoma pulmonar Carcinoma de nasolaringe Carcinoma gástrico e renal Sarcoma (?)
Titânio	Ratos	Locais de injeção	Sarcoma	Não observada	Não observado
Zinco	Frangos, ratos, *hamsters*	Testículos Testículos	Carcinoma Teratoma	Não observada	Não observado

tas bases nitrogenadas são perdidas nas extremidades terminais. Esse tipo de deleção pode produzir uma alteração na sequência codificante e ser potencialmente mutagênico.

Classes de carcinógenos genotóxicos

Hidrocarbonetos poliaromáticos Hidrocarbonetos poliaromáticos, como benzo(a)pireno, são encontrados em grandes quantidades em alimentos grelhados com carvão, na fumaça de cigarros e após combustão do diesel.

Agentes alquilantes Substâncias químicas alquilantes representam uma importante classe de carcinógenos químicos. Enquanto algumas substâncias alquilantes atuam como agentes genotóxicos diretos, outras requerem ativação metabólica para produzirem metabólitos eletrofílicos reativos com o DNA. Agentes alquilantes podem ser classificados em diversos grupos, entre eles: alquilalcanosulfonatos de ação direta (metil e etil matano sulfonados) e nitrosamidas (*N*-metil-*N*-nitrosureia, *N*-etil-*N*-nitrosureia, *N*-metil-*N*-nitro-*N*-nitrosoguanidina) e nitrosamidas indiretas (dimetil- e dietilnitrosamina). Os compostos alquilantes podem reagir diretamente com o DNA em mais de 12 locais diferentes. A posição N^7 da guanina e a posição N^3 da adenina são os locais mais reativos na molécula do DNA para substâncias químicas alquilantes.

Aminas aromáticas e amidas Aminas aromáticas e amidas compreendem uma classe de substâncias químicas com diversas estruturas. As aminas aromáticas são metabolizadas por enzimas de fase I (hidrólise, redução e oxidação) e por enzimas de fase II (conjugação). Reações de fase I ocorrem principalmente mediadas pelo citocromo P450, gerando metabólitos hidroxilados que são, com frequência, associados à formação de adutos em proteínas e no DNA e que são carcinógenos para o fígado e a bexiga.

Carcinógenos inorgânicos

Muitos metais exibem carcinogenicidade em animais experimentais e/ou em seres humanos expostos. Na Tabela 8.3, encontram-se listados alguns metais e sua correspondente carcinogenicidade em animais e em seres humanos. O Capítulo 23 apresenta mais informações sobre esses metais.

TABELA 8.4 Modos de ação propostos para alguns carcinógenos químicos não genotóxicos

Modo de ação	Exemplo
Citotoxicidade	Clorofórmio Melamina
Ligação à α_{2u}-globulina	D-limoneno, 1,4-diclorobenzeno
Respostas mediadas por receptor	Fenobarbital
PPARα	Tricloroetileno Percloroetileno Dietilhexilftalato Fibratos (p. ex., clofibrato)
AhR	2,3,7,8-tetracloro-p-dioxina (TCDD) Bifenilpoliclorados (PCBs) Bifenilpolibromados (PBBs)
Hormonal	Aminas biogênicas Hormônios peptídeos e esteroides Dietilbestrol (DES) Fitoestrógenos (bisfenol-A) Tamoxifeno Fenobarbital
Alteração da metilação	Fenobarbital Deficiência de colina Dietanolamina
Indutores de estresse oxidativo	Etanol 2,3,7,8-tetracloro-p-dioxina (TCDD) Lindano Dieldrin Acrilonitrila

Carcinógenos não genotóxicos (epigenéticos)

Algumas substâncias químicas que induzem neoplasias em animais experimentais após exposição crônica parecem atuar por mecanismos que não envolvem ligação, interação ou dano direto ao DNA. Esses agentes são conhecidos como carcinógenos não genotóxicos. Observou-se, em modelos com animais, que esses carcinógenos atuam preferencialmente em tecidos que apresentam elevada incidência de tumores espontâneos. É necessária a exposição prolongada a níveis relativamente elevados dessas substâncias para que ocorra o desenvolvimento da neoplasia. Os diversos modos de ação de carcinógenos não genotóxicos estão listados na Tabela 8.4.

Citotoxicidade Substâncias químicas que atuam por esse mecanismo induzem morte celular. Com frequência, o metabolismo dessas substâncias químicas é acompanhado por crescimento regenerativo persistente, aumentando a probabilidade do aparecimento de mutações "espontâneas" no DNA e permitindo que as células mutadas se acumulem e proliferem. Esse processo colabora para o desenvolvimento de lesões pré-neoplásicas que podem evoluir para câncer. A indução de citotoxicidade é mecanismo comum a diversos carcinógenos, tanto genotóxicos como não genotóxicos, em ocasiões que ocorre elevada exposição a agentes tóxicos. Assim, elevadas doses de carcinógenos químicos podem provocar indução da citotoxicidade com hiperplasia compensatória, o que pode contribuir para a carcinogenicidade.

Respostas mediadas por receptor

Indutores do sistema citocromo P450: carcinógenos como o fenobarbital O fenobarbital é um composto que, embora não reativo com o DNA, causa câncer por mecanismos não genotóxicos que envolvem hiperplasia hepática. A indução da CYP2B pelo fenobarbital é mediada pela ativação do receptor androstano constitutivo (RAC), um membro da família de receptores nucleares. Outras ações do fenobarbital dependentes de RAC que são fundamentais para a formação de câncer incluem aumento da proliferação celular, inibição da apoptose, inibição das funções comunicantes do tipo hiato (gap function), hipertrofia e desenvolvimento de lesões focais pré-neoplásicas no fígado.

Resposta mediada pelo receptor ativado por proliferador de peroxissomos α (PPARα) Várias substâncias químicas são capazes de aumentar o número e o volume de peroxissomos no citoplasma das células. Os proliferadores de peroxissomos incluem substâncias químicas como herbicidas, solventes clorados (p. ex., tricloroetileno e percloroetileno), plastificantes (p. ex., dietilhexilftalato e outros ftalatos), fármacos que reduzem as taxas lipídicas (p. ex., ciprofibrato e clofibrato) e produtos naturais. Além disso, muitas dessas substâncias químicas atuam por meio de mecanismos não reativos com DNA. Foi demonstrado que essas substâncias induziram aumento no tamanho do fígado e carcinoma hepatocelular em ratos e camundongos por meio de mecanismos não DNA reativos. Atualmente, o modo de ação mais aceito para essa classe de substâncias químicas é a ligação agonista ao receptor nuclear PPARα. Esse receptor é altamente expresso em células que têm capacidade ativa de oxidar ácidos graxos. O PPARα tem um papel central no metabolismo lipídico e, após sua ativação, atua como fator de transcrição na modulação da expressão gênica.

Modo de ação hormonal Substâncias químicas com ação hormonal incluem aminas, esteroides e hormônios peptídicos que causam alterações tecido-específicas por meio da interação com receptores. Hormônios tróficos são conhecidos por induzir a proliferação celular em seus órgãos-alvo. Essa ação pode provocar o desenvolvimento de cânceres quando o mecanismo de controle hormonal estiver desregulado e quando ocorrerem taxas hormonais elevadas persistentes.

Agentes estrogênicos podem induzir câncer em tecidos dependentes de estrógeno. Indivíduos com elevados níveis de estrógeno circulante e aqueles expostos ao dietilestilbestrol (DES), um potente agente estrogênico, apresentam maior risco de desenvolver câncer. O DES tem sido relacionado, de modo causal, ao aumento na incidência de adenocarcinoma de vagina e cérvix em filhas de mulheres tratadas com esse hormônio durante a gestação. Os efeitos dos esteroides químicos no ciclo celular podem ser importantes para a indução de aneuploidia.

Algumas substâncias químicas que reduzem a concentração de hormônios da tireoide (T4 e/ou T3) e aumentam seu hormônio estimulante (TSH) têm sido relacionadas à indução de neoplasias da glândula em roedores. O TSH induz proliferação celular na tireoide, e fármacos indutores de TSH aumentam a probabilidade de progressão para hipertrofia folicular, hiperplasia e, por fim, neoplasia.

Metilação do DNA e carcinogênese O grau de metilação de um gene é inversamente relacionado à expressão desse gene. Muitas substâncias químicas são capazes de alterar a metilação do DNA, a atividade da metiltransferase e a estrutura cromossô-

mica. Durante a carcinogênese, tanto a hipometilação quanto a hipermetilação do genoma têm sido observadas. Genes supressores de tumor frequentemente apresentam-se hipermetilados no câncer. A hipometilação está associada ao aumento nas taxas de mutação, pois oncogenes se encontram hipometilados e com sua expressão aumentada.

Espécies reativas de oxigênio têm sido relacionadas a alterações na metilação do DNA, pois podem interferir na habilidade de metiltransferases interagirem com o DNA, resultando em hipometilação e expressão de genes normalmente quiescentes. O padrão de metilação anormal também é observado em células transformadas por substâncias químicas oxidantes e pode contribuir para alterações na expressão gênica e na promoção da carcinogênese.

Estresse oxidativo e carcinogênese química Radicais de oxigênio podem ser produzidos por fontes endógenas ou exógenas e são geralmente contrabalanceados por antioxidantes. As defesas antioxidantes são enzimáticas (p. ex., superóxido desmutase, glutationa peroxidase e catalase) e não enzimáticas (p. ex., vitamina E, vitamina C, β-caroteno e glutationa). Fontes endógenas de espécies reativas de oxigênio incluem fosforilação oxidativa, metabolismo do sistema P450, peroxissomos e inflamação. Por meio desses e de outros mecanimos, ainda não conhecidos, várias substâncias químicas que induzem câncer (p. ex., compostos clorados, radiação, íons metálicos, barbitúricos e alguns agonistas de PPARα) promovem a formação de espécies reativas de oxigênio e/ou estresse oxidativo.

Danos oxidativos e carcinogênese Se as espécies reativas de oxigênio não forem balanceadas com antioxidantes, podem ocorrer danos em macromoléculas na célula. No DNA, espécies reativas de oxigênio podem produzir quebras em fita simples e em fita dupla, modificações em purinas, pirimidinas ou em desoxirribose e *crosslink* de DNA.

Mutações e danos oxidativos no DNA mitocondrial têm sido identificados em vários tipos de cânceres. Comparado com o DNA nuclear, o genoma mitocondrial é relativamente suscetível a danos oxidativos devido (1) à proximidade ao sistema de transporte de elétrons, considerado a maior fonte de espécies reativas de oxigênio; (2) ao DNA mitocondrial não ser protegido por histonas; e (3) à capacidade de reparo do DNA mitocondrial ser limitada na mitocôndria.

Estresse oxidativo e regulação do crescimento celular A ativação de cascatas de sinalização por espécies reativas de oxigênio induzidas por carcinógenos químicos provoca alteração na expressão de diversos genes, incluindo aqueles que afetam a proliferação, a diferenciação e a apoptose. A ativação de NFκB, um fator de transcrição expresso em diversos locais, é regulada, em parte, por espécies reativas de oxigênio e pelo estado redox celular, e tem sido relacionada a uma ampla variedade de estímulos extracelulares, incluindo exposição a carcinógenos químicos tais como agonistas de PPARα e bifenilpoliclorados (PCBs).

Junções de comunicação celular de hiato e carcinogênese

Junções de comunicação celular de hiato parece ter um importante papel na regulação do crescimento e da morte celular, em parte devido a sua habilidade de permitir a passagem de pequenas moléculas (<1 kDa) entre as células. Se a comunicação celular entre uma célula neoplásica e uma célula normal for bloqueada, a célula normal não poderá transmitir os sinais de controle de crescimento para célula iniciada, facilitando a expansão clonal das células iniciadas.

Polimorfismos envolvidos no metabolismo de carcinógenos e no sistema de reparo do DNA

Polimorfismos genéticos advêm da variabilidade genética humana. Na carcinogênese, os polimorfismos genéticos podem aumentar a suscetibilidade de alguns indivíduos para o câncer. Vários polimorfismos têm sido descritos em enzimas envolvidas com o metabolismo de carcinógenos, e, além disso, certos alelos têm sido relacionados a riscos alterados ao desenvolvimento de determinados cânceres. A enzima glutationa S-transferase (GST) é altamente polimórfica em seres humanos. A isoforma GSTM1 é particularmente importante na carcinogênese devido a sua alta reatividade com epóxidos.

O risco carcinogênico depende da exposição (dose e duração), bem como da suscetibilidade genética. Se a suscetibilidade é alta, por exemplo, a exposição a um carcinógeno químico irá resultar em elevado risco de desenvolvimento de câncer.

Proto-oncogenes e genes supressores de tumor

Proto-oncogenes e genes supressores de tumor codificam uma grande variedade de proteínas que funcionam controlando a proliferação celular. Características comuns de oncogenes e genes supressores de tumor estão presentes na Tabela 8.5. Mutações em oncogenes e genes supressores de tumor contribuem progressiva-

TABELA 8.5 Características comuns de proto-oncogenes, oncogenes e genes supressores de tumor

Proto-oncogenes	Oncogenes	Genes supressores de tumor
Dominante	Dominante	Recessivo
Ampla especificidade para desenvolvimento de câncer em tecidos	Ampla especificidade para desenvolvimento de câncer em tecidos	Especificidade considerável para o desenvolvimento de câncer em tecidos
Linhagem envolvida no desenvolvimento de câncer raramente herdável	Linhagem envolvida no desenvolvimento de câncer frequentemente herdável	Linhagem envolvida no desenvolvimento de câncer frequentemente herdável
Semelhante a certos oncogenes virais	Não há análogos conhecidos em oncogenes virais	Não há análogos conhecidos em oncogenes virais
Mutações somáticas ativadas durante todas as etapas da carcinogênese	Mutações somáticas ativadas durante todas as etapas da carcinogênese	Mutações germinais podem iniciar a carcinogênese, mas mutações para neoplasias ocorrem somente durante a etapa de progressão

mente para o desenvolvimento de câncer em seres humanos. Danos acumulados em múltiplos oncogenes e/ou genes supressores de tumor podem resultar na proliferação alterada, diferenciação e capacidade de sobrevivência da célula.

Retrovírus O *vírus do sarcoma de Rous* (RSV) é capaz de transformar uma célula normal e produzir sarcomas. O genoma desse vírus e de outros retrovírus consiste em duas cópias idênticas de RNA mensageiro que são reversamente transcritas em DNA e incorporadas no genoma do hospedeiro. Vírus que ocasionam transformação genômica contêm o gene v-*src*, um gene necessário para a indução de câncer. Células normais apresentam genes semelhantes ao v-*src*. Essa descoberta demonstra que o câncer pode ser induzido pela ação de genes normais ou quase normais.

Vírus de DNA Infecções por pequenos vírus de DNA são letais para a maioria das células não hospedeiras animais; entretanto, uma pequena proporção integra o DNA viral no genoma do hospedeiro. As células que sobrevivem a essa infecção se tornam permanentemente transformadas devido à presença de um ou mais oncogenes no DNA viral. Os papilomavírus podem infectar e causar tumores em seres humanos. Os papilomavírus 16, 18, 31 e 33 são associados a câncer cervical em seres humanos.

Proto-oncogenes Um oncogene codifica uma proteína que é capaz de transformar células em cultura ou induzir câncer em animais. Entre os oncogenes conhecidos, a maioria parece ser derivada de genes normais (i.e., proto-oncogenes) e está envolvida em cascatas de sinalização celular. Devido ao fato de a maioria dos proto-oncogenes ser essencial à manutenção da viabilidade celular, eles são altamente conservados. A ativação de proto-oncogenes a oncogenes ocorre devido a mutações. Sabe-se que carcinógenos químicos são capazes de causar mutações em proto-oncogenes. Oncogenes podem atuar em diversos níveis da cascata de sinalização, incluindo ligantes, receptores e fatores de transcrição.

Genes supressores de tumor

Gene do retinoblastoma (Rb) As proteínas codificadas pela maioria dos genes supressores de tumor atuam como inibidores da proliferação celular ou da sobrevivência celular (Tab. 8.6). O protótipo do gene supressor de tumores, *Rb*, foi identificado por estudos de herança de retinoblastoma, sendo que sua perda ou mutação contribui para o desenvolvimento de uma ampla variedade de cânceres em seres humanos. Na sua forma não fosforilada, o Rb liga-se aos fatores de transcrição *E2F* prevenindo a ativação transcripcional mediada por E2F de genes cujos produtos são necessários para a síntese de DNA. O Rb torna-se fosforilado durante a fase G1 do ciclo celular, causando dissociação de E2F – um processo que permite ao E2F induzir a síntese de enzimas envolvidas na duplicação do DNA, resultando no comprometimento do ciclo celular.

TABELA 8.6 Exemplos de genes supressores de tumor e associação com câncer

Supressor de tumor	Doença	Neoplasia
Rb1	Retinoblastoma	Carcinoma de pulmão de células pequenas
p53	Síndrome de Li--Fraumeni	Câncer de mama, colo, pulmão
BRCA1	Desconhecida	Carcinoma de mama
WT-1	Tumor de Wilms	Câncer de pulmão
p16	Desconhecida	Melanoma

Gene p53 A proteína p53 é um gene supressor de tumor essencial para controle e que interrompe o ciclo celular na fase G1 em células que apresentam danos no DNA. Células que têm p53 funcional param o ciclo celular em G1 quando expostas a agentes que causam danos no DNA, enquanto células que não têm p53 funcional são incapazes de bloquear o ciclo celular. O p53 é ativado por uma série de fatores estressores, incluindo luz ultravioleta, radiação γ, calor e diversos carcinógenos.

Na maioria das células, a acumulação de p53 também provoca a indução de proteínas que promovem a apoptose e, assim, previnem a proliferação de células que poderiam acumular múltiplas mutações. Quando o controle p53 não funciona adequadamente, o dano no DNA pode se propagar, produzindo mutações e rearranjos no DNA que contribuem para o desenvolvimento das células transformadas.

Efeito *hormesis* e carcinogênese

O efeito *hormesis* é definido como uma curva dose-resposta com a forma U-, J- ou U- invertida, com exposição a baixas doses frequentemente gerando efeitos benéficos ao invés de efeitos deletérios. Respostas adaptativas têm sido propostas para explicar efeitos horméticos observados em resposta à exposição a carcinógenos químicos. Isso envolve ações de substâncias químicas nas vias de sinalização celular que levam a alterações na expressão gênica, resultando em aumento da detoxificação e excreção de substâncias químicas e preservando o ciclo celular e a morte celular programada. Foi proposto que após doses muito baixas de substâncias químicas, a autorregulação desses mecanismos compensa o dano celular, de modo que uma redução na promoção do tumor e/ou desenvolvimento do tumor é vista e poderia explicar as curvas com formato de U- e J- obtidas após exposição a carcinógenos. Uma característica comum de carcinógenos químicos para os quais o efeito *hormesis* tem sido proposto é a formação de espécies reativas de oxigênio e indução de isoenzimas do sistema P450.

Quimioprevenção

O estudo de substâncias químicas que previnem, inibem ou retardam a carcinogênese é definido como quimioprevenção. Várias substâncias químicas, incluindo fármacos, antioxidantes, alimentos e vitaminas, apresentam atividade quimiopreventiva em modelos *in vitro* e *in vivo*. O conceito básico da quimioprevenção é o tratamento durante as primeiras etapas da carcinogênese para prevenir o estabelecimento da progressão. Agentes quimiopreventivos podem atuar como inibidores da formação de carcinógenos, agentes bloqueadores e/ou agentes supressores. Agentes bloqueadores previnem a ativação metabólica de carci-

nógenos genotóxicos e não genotóxicos, inibindo o metabolismo ou estimulando mecanismos de detoxificação. Agentes supressores induzem a diferenciação tissular, podem contrapor oncogenes, estimular a atividade de genes supressores de tumor, inibir a proliferação de células pré-malignas ou modificar o efeito do carcinógeno no tecido-alvo.

TESTES PARA AVALIAÇÃO DA CARCINOGENICIDADE

Testes de curta duração para mutagenicidade

Testes de curta duração para mutagenicidade foram desenvolvidos para identificar carcinógenos químicos potenciais e sua habilidade de ocasionar mutações no DNA *in vitro* e *in vivo*. A maioria desses testes avalia a mutagenicidade de substâncias químicas como biomarcadores de carcinogenicidade. Apesar de serem preditivos para ações diretas ou indiretas (se a fonte metabólica for fornecida), esses testes não são capazes de detectar carcinógenos não genotóxicos.

Testes de mutação gênica *in vitro* O teste de curta duração mais utilizado é o teste de Ames. Cepas de *Salmonella typhimurium* deficientes em enzimas de reparo de DNA e incapazes de sintetizar histidina são tratadas com diversas doses do composto que está sendo testado. Ao final, são registradas as doses em que ocorreu reversão ao fenótipo histidina positivo.

O teste para avaliação de linfoma em camundongos é um teste que determina a capacidade de uma substância química causar mutação em células eucarióticas. A habilidade da cultura celular em adquirir resistência à trifluorotimidina (resultante da mutação no lócus da timidina quinase) é quantificada. Outro teste para avaliação de mutação em mamíferos é o "teste do ovário de *hamster* chinês", que é normalmente utilizado para avaliar a mutagenicidade de substâncias químicas. Esse teste utiliza o gene da hipoxantina-guanina fosforibosiltransferase como *endpoint*.

Testes para avaliação de mutação gênica *in vivo* Os testes para avaliação da mutação gênica *in vivo* têm vantagens em relação aos testes *in vitro*, pois levam em consideração a absorção, a distribuição, o metabolismo e a excreção das substâncias químicas e de seus metabólitos. Os modelos *in vivo* comumente utilizados incluem sistemas de teste de mutação em roedores transgênicos com base nos genes *lac operon*, Muta™Mouse e BigBlue®.

Para detectar mutações após a exposição dos camundongos à substância química teste, estas são analisadas em DNA de alto peso molecular isolado do tecido que está sob investigação. A relação entre as mutações observadas em relação à população total irá fornecer uma frequência de mutação para cada substância química e em cada órgão testado. Testes de genotoxicidade *in vivo* irão falhar na identificação de compostos não genotóxicos/não DNA reativos.

Alterações cromossômicas Alterações cromossômicas são lesões comuns em neoplasias. Teste *in vitro* e *in vivo* são capazes de detectar essas alterações. Para detectar a indução de alterações cromossômicas, células são colhidas em seu primeiro ciclo mitótico após a iniciação causada pela exposição à substância química. Células são coradas com Giemsa e cariotopadas (21 ± 2 cromossomos). As classes de aberrações cromossômicas registradas incluem quebras, deleções terminais, rearranjos e translocações, bem como desespiralização de cromossomos e células contendo 10 ou mais aberrações.

Trocas de cromátides irmãs (SCEs; *sister chromatid exchanges*) são indicativas de danos ao DNA e estão associadas a indução de mutação no DNA e câncer. As SCEs resultam de trocas de DNA entre diferentes cromátides em *loci* homólogos de um cromossomo em duplicação. Células na segunda divisão da metáfase são selecionadas para determinar a frequência de SCE/célula em cada nível de dose. A desregulação do processo de duplicação do DNA ou danos em cromossomos ocasionados por substâncias químicas podem alterar o material genético que será distribuído para células-filhas. Quando isso acontece, o material genético que não é incorporado no núcleo pode formar seu próprio "micronúcleo", que é facilmente visível no microscópio. Para essa análise, animais são expostos a substâncias químicas, e a frequência de células micronucleadas é determinada em tempos específicos após o tratamento.

Danos ao DNA Danos primários ao DNA representam possíveis eventos pré-mutacionais que podem ser detectados utilizando-se células de mamíferos em culturas ou tecidos de roedores. A síntese de DNA não marcado avalia a habilidade de uma substância química induzir lesões no DNA por meio da análise dos mecanimos de reparo. Entre as técnicas disponíveis, encontra-se a avaliação de quebras de fitas simples e duplas do DNA *in vitro* e *in vivo*.

Ensaios de transformação Vários sistemas de testes *in vitro* têm sido desenvolvidos para estabelecer o potencial carcinogênico de substâncias químicas. A linhagem celular C3H/10T$^{1/2}$ tem sido utilizada com frequência em ensaios de transformação. Essa linhagem é originalmente derivada de fibroblastos coletados da próstata de embriões de camundongos C3H. As células são aproximadamente tetraploides, mas o número de cromossomos nas células varia de forma considerável. Assim, essas células são cromossomicamente anormais e já passaram por alguns dos estágios que podem estar envolvidos na produção da célula cancerosa. Durante o plaqueamento dessas células, elas irão parar de crescer quando sua densidade atingir níveis suficientemente elevados (inibição do crescimento por contato). Entretanto, a inibição por contato pode falhar, resultando em acúmulo celular e transformação da colônia. Assim, esse teste estabelece o potencial carcinogênico com base na porcentagem de colônias transformadas após a exposição a xenobióticos.

O *endpoint** mais utilizado para constatar a transformação celular é a transformação morfológica de células de fibroblastos de mamíferos em cultura. O teste de transformação usando células de embriões de *hamster* Syrian permite avaliar o potencial carcinogênico de substâncias químicas. Esse teste mede o potencial carcinogênico dos xenobióticos baseando-se em critérios morfológicos das colônias transformadas.

* N. de T.: O termo *endpoint* será utilizado para expressar resultado medido ou observado que indica ou reflete o efeito da situação testada.

Testes de longa duração para avaliação da carcinogenicidade

Bioensaio crônico (2 anos) Ensaios de 2 anos durante o ciclo de vida de roedores ainda são os principais métodos pelos quais substâncias químicas e físicas são identificadas como potenciais deletérias para seres humanos. Em bioensaios de longa duração, são selecionadas duas ou três doses (acima da dose máxima tolerada) da substância teste. O veículo da substância é administrado como controle a 50 machos e 50 fêmeas (camundongos e ratos), tendo início quando os animais têm 8 semanas de idade e continuando durante toda sua vida. Durante o estudo, o consumo de alimento e o ganho de peso corpóreo são monitorados, e os animais são observados clinicamente. Ao momento da necropsia, são estabelecidos o número de neoplasias, a localização e o diagnóstico patológico para cada animal.

Bioensaios órgão-específicos e modelos de múltiplas etapas em animais Vários bioensaios tecido-específicos têm sido desenvolvidos com o objetivo de produzir um teste confiável e sensível que possa ser realizado em menos de 2 anos. Esses testes são comumente utilizados para detectar a atividade carcinogênica de substâncias químicas em vários órgãos-alvo.

Teste de carcinogenicidade no fígado O fígado representa o maior órgão-alvo para carcinógenos químicos. Estima-se que metade das substâncias químicas testadas em bioensaios de 2 anos pelo National Toxicology Program induziu aumento na incidência de câncer de fígado. Testes têm sido desenvolvidos para avaliar e distinguir substâncias químicas que podem atuar nas etapas de iniciação e promoção da carcinogênese de fígado. A habilidade do teste químico em promover o crescimento da lesão pré-neoplásica deve ser estabelecida.

Teste de carcinogenicidade na pele O modelo de pele de camundongos tem sido utilizado para estudar mecanismos de carcinogênese e também é suposto ser um bioensaio útil para avaliação de neoplasias em médio prazo. Esse modelo explora as diversas características da pele de camundongos, sendo que uma das maiores vantagens é que o desenvolvimento das neoplasias pode ser acompanhado visualmente. Além disso, o número e o tamanho dos papilomas e carcinomas podem ser quantificados à medida que o tumor progride. Agentes iniciantes e promotores podem ser identificados com a utilização desse modelo. Células iniciadas na pele parecem ser idênticas às células normais, porém apresentam maior capacidade proliferativa e, assim, representam a população celular que dá origem ao câncer. Por meio de aplicações repetitivas de agentes promotores, ocorrerá a expansão clonal seletiva dos queratinócitos iniciados, resultando em papilomas de pele que podem evoluir para carcinomas.

Teste de carcinogenicidade em outros órgãos Testes para avaliar a habilidade de substâncias químicas promoverem o desenvolvimento de neoplasias em outros órgãos além do fígado e da pele também têm sido desenvolvidos. Os sistemas disponíveis incluem modelos em animais para carcinogênese de pulmão, rim, bexiga, pâncreas, estômago, colo, intestino delgado e cavidade oral. Esses modelos variam de acordo com o carcinógeno iniciante utilizado, bem como com frequência, sítio de aplicação e duração da exposição ao agente promotor.

Uso de animais transgênicos para avaliação de carcinogenicidade

Modelos em animais com alterações genéticas que os tornam mais suscetíveis à carcinogênese induzida por substâncias químicas incluem camundongos transgênicos Tg.AC e rasH2 e camundongos nocauteados para $p53^{+/-}$ e $XPA^{+/-}$. Recentemente, a viabilidade para o uso desses animais como ensaios alternativos para estudos de longa duração foi estabelecida pelo Health and Environmental Sciences Institute (HESI), do International Life Sciences Institute (ILSI). As conclusões a partir de revisões científicas sugerem que esses modelos parecem ser úteis para a avaliação da carcinogenicidade de substâncias químicas, entretanto, eles não fornecem provas definitivas do potencial carcinogênico dessas substâncias em seres humanos. Além disso, sugere-se que esses ensaios possam ser usados no lugar dos bioensaios de 2 anos. Juntamente com informações relacionadas à genotoxidade, em particular com reatividade com DNA e relação estrutura-atividade, os resultados de bioensaios e outras investigações mecanísticas, incluindo estudos de toxicocinética, metabolismo e informações relacionadas ao mecanismos de ação, fazem esse modelo ser útil para a avaliação da carcinogenicidade de substâncias químicas.

CARCINOGÊNESE QUÍMICA EM SERES HUMANOS

Muitos fatores têm sido relacionados à indução de câncer em seres humanos. Agentes infecciosos, estilo de vida, tratamentos médicos e exposição ambiental e ocupacional influenciam o desenvolvimento de cânceres direta ou indiretamente. Desses fatores, o componente que contribui para maioria dos cânceres é o estilo de vida: tabagismo, ingestão de bebidas alcoólicas e dieta inadequada (Tab. 8.7). O tabagismo, seja pelo hábito de fumar, de mascar tabaco ou de usar produtos como rapé, é responsável por 25 a 40% de todos os casos de câncer em seres humanos. Observa-se, em especial, uma elevada relação entre tabagismo e câncer de boca, laringe, pulmão, esôfago e bexiga. Estima-se que 85 a 90% de todos os casos de câncer de pulmão nos Estados Unidos estão diretamente associados ao tabagismo. A indução do câncer de pâncreas também parece ter relação com o tabagismo.

TABELA 8.7 Fatores carcinogênicos associados ao estilo de vida

Substância(s) química(s)	Neoplasia(s)
Consumo de álcool	Esôfago, fígado, orofaringe e laringe
Aflatoxinas	Fígado
Mascar noz betel	Boca
Dieta rica em calorias, lipídeos e proteínas	Mama, colo, endométrio, bexiga
Tabagismo	Boca, faringe, laringe, pulmão, esôfago, bexiga

O consumo de álcool contribui de 2 a 4% para os casos de câncer de esôfago, fígado e laringe.

Dietas inadequadas, exposição ocupacional e terapia quimioterápica também podem causar câncer em seres humanos. Dietas ricas em gorduras e calorias têm sido associadas a cânceres de mama, colo e bexiga. Dietas pobres em antioxidantes e/ou em vitaminas, como vitaminas A e E, provavelmente também contribuem para o desenvolvimento de câncer. A maneira de cozimento dos alimentos pode influenciar na produção de carcinógenos durante o processo de cocção. Aminas heterocíclicas carcinogênicas e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são formados nas carnes assadas e tostadas. A acrilamida, uma substância suspeita de ser carcinógena, pode ser encontrada em baixas concentrações em alimentos fritos. Algumas substâncias químicas encontradas em ambientes ocupacionais e relacionadas ao desenvolvimento de neoplasias encontram-se listadas na Tabela 8.8. Medicamentos utilizados com fins terapêuticos ou de diagnósticos que têm sido associados com o desenvolvimento de cânceres estão listados na Tabela 8.9. A terapia de imunossupressão utilizada em pacientes que passaram por transplantes ou utilizada em doenças, como a síndrome de imunodeficiência adquirida (Aids), também resulta no aumento da incidência de algumas neoplasias. Esses resultados corroboram a hipótese de o sistema imune estar envolvido na identificação e remoção das lesões pré-neoplásicas do organismo.

TABELA 8.8 Carcinógenos ocupacionais

Agente	Processo industrial	Neoplasia
Asbesto	Construção, minas de asbesto	Peritôneo, brônquios
Arsênio	Mineração e fundição	Pele, brônquios, fígado
Agentes alquilantes (hidrocloreto de mecloroetamina e éter bis[clorometil]	Síntese de produtos químicos	Brônquios
Benzeno	Síntese de produtos químicos	Medula óssea
Benzidina, beta-naftilamina	Tingimento e indústria têxtil	Bexiga
Cromo e cromados	Tingimento e produção de pigmento	Cavidade nasal, brônquios
Níquel	Refinaria de níquel	Cavidade nasal, brônquios
Hidrocarbonetos aromáticos polinucleares	Produção de aço, limpeza de chaminé	Pele, escroto, brônquios
Monômeros de cloreto de vinila	Síntese de produtos químicos	Fígado
Poeira de madeira	Marcenaria	Cavidade nasal
Berílio	Fabricação de aeronaves, produtos eletrônicos	Brônquios
Cádmio	Fundição	Brônquios
Óxido de etileno	Produção de suprimentos hospitalares	Medula óssea
Formaldeído	Indústria de plásticos, têxtil e química	Cavidade nasal, brônquios
Bifenilas policloradas	Produção e manutenção de equipamentos elétricos	Fígado

TABELA 8.9 Carcinógenos químicos para seres humanos associados a terapia medicamentosa e diagnóstico

Substância química ou fármaco	Neoplasia associada
Agentes alquilantes (ciclofosfamida, melfalan)	Bexiga, leucemia
Azatioprina	Linfoma, sarcoma de células reticulares, pele, sarcoma de Kaposi (?)
Cloranfenicol	Leucemia
Dietilestilbestrol	Vaginal (carcinoma de células claras)
Estrógenos	Adenoma de células hepáticas, endométrio e pele
Fenacetina	Pelve renal (carcinoma)
Fenitoína	Linfoma, neuroblastoma
Torotraste	Fígado (angiossarcoma)

TABELA 8.10 Classificação da IARC para avaliação da carcinogenocidade em seres humanos

Grupo	Evidência
1. Agente é carcinogênico para seres humanos	Dados em humanos e animais
2A. Agente é provavelmente carcinogênico para seres humanos	Dados epidemiológicos sugestivos em seres humanos Dados positivos em animais
2B. Agente é possivelmente carcinogênico para seres humanos	Dados epidemiológicos fracos em seres humanos Dados positivos em animais
3. Agente não classificável quanto a sua carcinogenicidade para seres humanos	Dados inadequados em humanos e em animais
4. Agente provavelmente não carcinogênico para seres humanos	Dados negativos em humanos e em animais

Avaliação da classificação da carcinogenicidade em seres humanos

A avaliação e a designação de uma substância química ou mistura de substâncias como carcinogênica para seres humanos é avaliada por diversas agências em todo o mundo. A avaliação geralmente compreende dados de estudos epidemiológicos e experimentais com animais, além de dados *in vitro* empregando ensaios, como descrito previamente neste capítulo. Uma das primeiras classificações para carcinogenidade foi realizada pela International Agency for Research on Cancer (IARC) (Tab. 8.10). A IARC classifica as substâncias químicas ou misturas em uma das cinco possíveis categorias baseando-se no peso das evidências de o agente ser possível, provável ou definitivamente carcinogênico para seres humanos. Classificações similares existem para U.S. EPA, Food & Drug Administration (FDA) e European Community (EC). A classificação de substâncias em relacão a sua carcinogenicidade em humanos pode ser muito difícil, particularmente quando os dados em animais e/ou os estudos epidemiológicos em seres humanos são inconclusivos ou confusos.

REFERÊNCIAS

Shields PG (ed): *Cancer Risk Assessment*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005.

Tannock IF, Hill RP, Bristow RG, Harrington L (eds): *The basic Science of Oncology*. New York: McGraw-Hill, 2005.

Warshawsky D, Landolph JR (eds): *Molecular Carcinogenesis and the Molecular Biology of Human Cancer*. Boca Raton: CRC/Taylor and Francis, 2006.

QUESTÕES

1. Existem evidências de que determinados compostos da dieta são carcinógenos. Qual das substâncias a seguir NÃO é classificada como um carcinógeno proveniente na dieta?
   a. Consumo excessivo de calorias
   b. Consumo excessivo de álcool
   c. Aflatoxina B1 (como contaminante em alimentos)
   d. Consumo insuficiente de calorias
   e. Nitritos (encontrados em algumas carnes)

2. Qual das seguintes afirmativas relacionadas a mecanismos de ação de carcinógenos é FALSA?
   a. Pró-carcinógenos precisam ser metabolizados para exercer seu efeito como carcinógenos.
   b. Radicais livres são moléculas altamente reativas que contêm elétrons únicos não pareados.
   c. Adutos de DNA interferem na maquinaria de duplicação do DNA.
   d. Mutações no DNA e falha no sistema de reparo de tais mutações podem ser altamente carcinogênicas.
   e. A redução biológica do oxigênio molecular é a única maneira pela qual radicais livres podem ser formados.

3. Além de necessário ao processo de transcrição, qual dos fatores de transcrição listados a seguir também atua no reparo de nucleotídeos por excisão?
   a. TFIIA
   b. TFIIB
   c. TFIID
   d. TFIIF
   e. TFIIH

4. Qual das seguintes afirmativas relacionadas ao reparo de DNA está correta?
   a. O reparo por excição de base requer a remoção de um longo pedaço de DNA em comparação com o reparo de excisão de nucleotídeo.
   b. O reparo de quebra de dupla fita de DNA é mais suscetível a erro do que o reparo por excisão de base.
   c. A dimerização de pirimidinas é reparada via reparo por excisão de bases.
   d. O reparo de pareamento errado de base simples reconhece somente nucleotídeos que foram pareados com nucleotídeos não complementares.
   e. O reparo por excisão de nucleotídeos e a excisão de bases são mecanismos usados em resposta a danos no DNA.

5. Qual das seguintes afirmativas é característica da etapa de promoção da carcinogênese?
   a. A iniciação é reversível em células viáveis.
   b. O efeito dose-resposta apresenta um limite facilmente mensurável.
   c. Um ciclo de divisão celular é necessário para a fixação do processo.
   d. Todas as células iniciadas sobrevivem durante toda a vida do organismo.
   e. A iniciação espontânea das células é um evento raro.

6. Genes supressores de tumor encontram-se mutados na maioria dos cânceres. Qual das opções a seguir NÃO é característica de genes supressores de tumor?
   a. Uma mutação em um gene supressor de tumor é dominante.
   b. A herança germinal de um gene supressor de tumor é frequentemente envolvida com o desenvolvimento de câncer.
   c. Não há especificidade tecidual considerável para o desenvolvimento de câncer.
   d. O gene *p53* é um gene supressor de tumor que também atua como fator de transcrição.
   e. Mutações em genes supressores de tumor podem resultar em perda de controle do ciclo celular.

7. Qual das seguintes moléculas NÃO tem papel importante na regulação do ciclo celular?
   a. p53
   b. Ciclina D
   c. MAPK
   d. MHC
   e. E2F

8. Qual dos seguintes fatores ambientais é proporcionalmente responsável pela MENOR quantidade de mortes por câncer?
   a. Tabaco
   b. Infecção
   c. Dieta
   d. Comportamento sexual
   e. Álcool

9. As evidências da carcinogenicidade induzida pela ingestão de determinadas dietas são suficientes em relação a determinados tipos de neoplasias, EXCETO:
   a. Colo
   b. Mama
   c. Pâncreas
   d. Endométrio
   e. Vesícula biliar

10. Qual das seguintes afirmativas é a definição correta para um carcinógeno completo?
    a. Uma substância química é somente capaz de iniciar as células.
    b. Uma substância química que tem habilidade de induzir câncer a partir de células normais frequentemente tem propriedades como agente iniciante, promotor e progressor.
    c. Uma substância química é capaz de converter uma célula iniciada ou uma célula na etapa de promoção a células malignas.
    d. Uma substância química é capaz de causar expansão clonal das células iniciadas.
    e. Uma substância química irá causar câncer em 100% das vezes em que for administrada.

CAPÍTULO

9

Toxicologia Genética

R. Julian Preston e George R. Hoffmann

IMPACTO À SAÚDE CAUSADO POR ALTERAÇÕES GENÉTICAS
- **Células somáticas**
- **Células germinativas**

AVALIAÇÃO DO RISCO DE CÂNCER E DOENÇAS GENÉTICAS
- **Avaliação do risco de câncer**
- **Avaliação do risco de doenças genéticas**

MECANISMOS DE INDUÇÃO DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS
- **DANOS AO DNA**
  - Radiações ionizantes
  - Luz ultravioleta
  - Substâncias químicas
  - Agentes endógenos
- **REPARO DE DNA**
  - Reparo por excisão de bases
  - Reparo por excisão de nucleotídeos
  - Reparo de quebras de dupla fita de DNA
  - Reparo de bases mal emparelhadas
  - Reparo de O^6-metilguanina por metiltransferase
- **Formação de mutações gênicas**
  - Células somáticas
  - Células germinativas
- **Formação de alterações cromossômicas**
  - Células somáticas
  - Células germinativas

ENSAIOS PARA DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS
- **Introdução às estratégias de ensaio**
- **Ensaios de dano e reparo de DNA**
- **Mutações gênicas em procariotos**
- **Alterações genéticas em eucariotos não mamíferos**
  - Mutações gênicas e alterações cromossômicas
  - Recombinação mitótica
- **Mutações gênicas em mamíferos**
  - Mutações gênicas *in vitro*
  - Mutações gênicas *in vivo*
  - Ensaios transgênicos
- **Ensaios citogenéticos em mamíferos**
  - Alterações cromossômicas
  - Micronúcleos
  - Troca de cromátides irmãs
  - Aneuploidia
- **Mutagênese em células germinativas**
  - Mutações gênicas
  - Alterações cromossômicas
  - Mutações dominantes letais
- **Desenvolvimento de estratégias de teste**

MONITORAMENTO DE POPULAÇÕES HUMANAS

NOVAS ABORDAGENS PARA A TOXICOLOGIA GENÉTICA
- Avanços na citogenética
- Análise molecular das mutações e expressão gênica

CONCLUSÃO

PONTOS-CHAVE

- A toxicologia genética avalia os efeitos dos agentes químicos e físicos sobre o material hereditário (DNA) e sobre os processos genéticos das células vivas.
- *Oncogenes* são genes que estimulam a transformação de células normais em células cancerosas.
- Ensaios de genotoxicidade servem para identificar mutágenos com o objetivo de avaliar o perigo, caracterizar a relação dose-resposta e os mecanismos mutagênicos.
- Existem vários ensaios de genotoxicidade, de curta duração, que servem para identificar muitos mutágenos e estabelecer a relação entre eles e os agentes que causam câncer.

A toxicologia genética avalia os efeitos dos agentes químicos e físicos tanto no DNA como nos processos genéticos das células vivas. Este capítulo apresenta os ensaios para avaliação qualitativa e quantitativa de alterações celulares induzidas por agentes químicos e físicos, os mecanismos moleculares envolvidos para que essas alterações ocorram e como essa informação pode ser incorporada em processos de avaliação de risco.

IMPACTO À SAÚDE CAUSADO POR ALTERAÇÕES GENÉTICAS

Células somáticas

Oncogenes são genes que estimulam a transformação de células normais em células cancerosas. Eles se originam quando genes, chamados de protooncogenes, envolvidos no crescimento e desenvolvimento celular normal, são geneticamente alterados. Mutações nos protooncogenes podem levar a superexpressão de sua atividade de estimulação do crescimento. Já mutações que inativam os genes supressores de tumor, que normalmente inibem a proliferação celular, liberam as células de sua influência inibitória.

A ação dos oncogenes é geneticamente dominante, de forma que um único oncogene ativo é expresso mesmo que seu alelo normal esteja presente na mesma célula. Entre as alterações cromossômicas que ativam protooncogenes, translocações são especialmente prevalentes. A translocação pode ativar um protooncogene movendo-o para uma nova localização cromossômica contendo um promotor mais ativo, aumentando, assim, sua expressão. Diferentemente dos oncogenes, os alelos que causam câncer originados de genes supressores de tumor são, em geral, recessivos, de forma que eles não são expressos quando em heterozigose. Mutações gênicas em um gene supressor tumoral localizado no cromossomo 17, chamado de gene *P53*,* ocorrem em diferentes tipos de cânceres, e a caracterização molecular das mutações nesse gene tem associado específicos cânceres a exposição a mutágenos.

Seis características adquiridas são essenciais para a formação de todos os tumores independentemente de seu tipo e espécie de ocorrência. Elas incluem: 1) autossuficiência em fatores de crescimento; 2) insensibilidade a fatores de anticrescimento; 3) evasão da apoptose; 4) potencial de replicação ilimitado; 5) manutenção da angiogênese; 6) invasão de tecidos e metástase.** É provável que não haja uma ordem específica para a obtenção dessas características.

Mutações gênicas, alterações cromossômicas (anormalidades morfológicas) e aneuploidia (alteração numérica dos cromossomos) estão todas envolvidas no desenvolvimento do câncer. Muitos agentes mutagênicos e clastogênicos (agentes que causam quebras cromossômicas) contribuem para o processo de carcinogênese como iniciadores; entretanto, mutágenos, agentes clastogênicos e aneugênicos também podem causar múltiplas alterações genéticas.

Células germinativas

A relevância das mutações gênicas à saúde humana é evidente, considerando as várias doenças causadas por substituição de pares de bases ou pequenas deleções que são herdadas como características mendelianas simples. Muitas doenças genéticas (p. ex., fibrose cística, fenilcetonúria, doença de Tay-Sachs) são causadas pela expressão de mutações recessivas.*** Essas mutações são principalmente herdadas de gerações precedentes e são expressas quando um indivíduo herda o gene mutante de ambos os pais.

Além de causarem doenças que exibem características de herança mendeliana, as mutações gênicas, sem dúvida, contribuem para o surgimento de doenças humanas com etiologia complexa, como doenças do coração, hipertensão e diabetes. Métodos citogenéticos sofisticados levaram a descoberta de pequenas variações na estrutura cromossômica que não têm efeito aparente. Contudo, outras alterações cromossômicas causam morte fetal e sérias anomalias. A aneuploidia também contribui para morte fetal e causa distúrbios genéticos, como a síndrome de Down. A maioria dos efeitos das anomalias cromossômicas ocorre na época pré-natal. Entre as anomalias, a aneuploidia é a mais comum, seguida da poliploidia. Alterações estruturais constituem aproximadamente 5% do total. A maioria das anomalias cromossômicas detectadas em recém-nascidos ocorre *de novo* nas células germinativas dos pais.

* N. de T.: Atualmente, a designação ao gene é TP53, segundo revisão de Joerger and Fersht. Structural biology of the tumor suppressor P53. Annual Review of Biochemistry, 77, 557-582, 2008.

** N. de. T.: Os mesmos autores, em artigo mais recente (Hanahan and Weinberg. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Cell, 144, 646-674, 2011), renomearam as seis características do câncer para: 1) manutenção da sinalização proliferativa; 2) evasão da supressão tumoral; 3) ativação da invasão e metástas; 4) imortalidade replicativa; 5) indução da angiogênese; e 6) resistência à morte celular.

*** N. de. T.: Os termos *recessivo* e *dominante* referem-se ao fenótipo, e não ao genótipo.

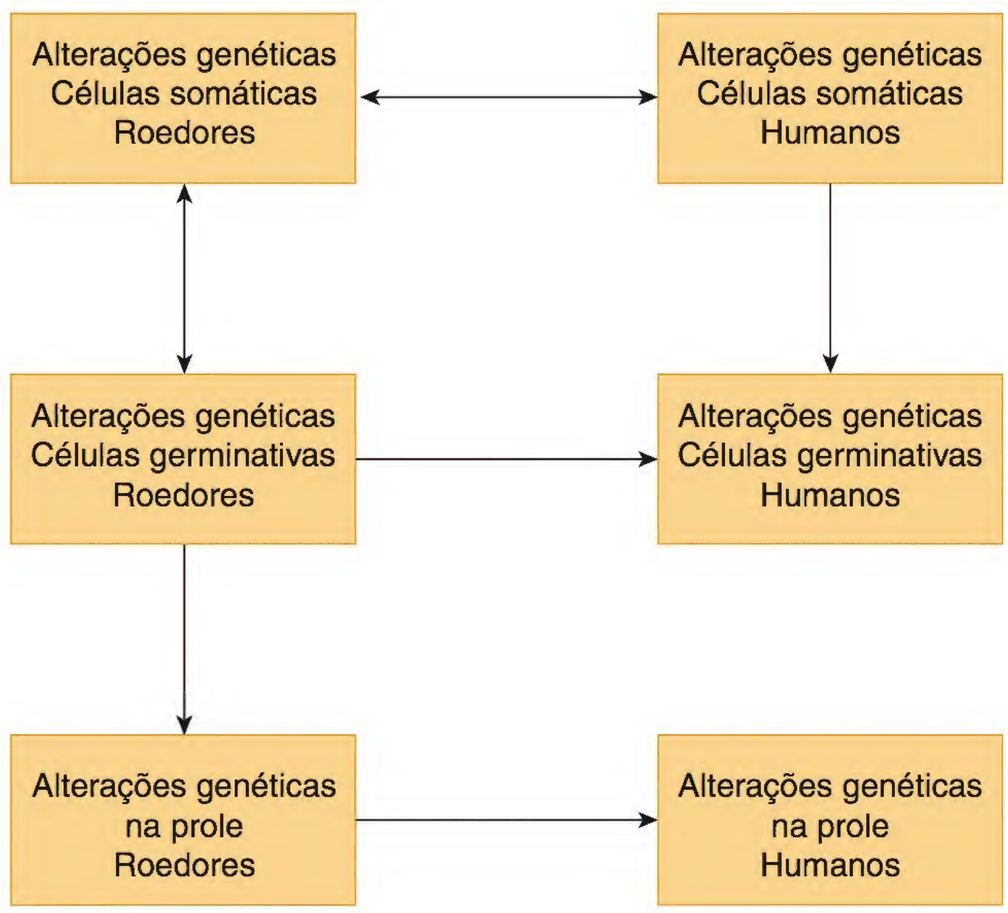


FIGURA 9.1 Abordagem em paralelograma para a avaliação de risco genético. Dados obtidos para alterações genéticas em células somáticas e germinativas de roedores e em células somáticas humanas são usados para estimar a frequência das mesmas alterações genéticas em células germinativas humanas. O passo final é estimar a frequência dessas alterações genéticas que são transmitidas para a prole.

AVALIAÇÃO DO RISCO DE CÂNCER E DOENÇAS GENÉTICAS

Avaliação do risco de câncer

A avaliação do risco de câncer envolve a investigação da sensibilidade das diferentes espécies e subpopulações à indução tumoral causada por um agente químico e o estabelecimento de uma curva dose-resposta de mutações diante de um agente químico.

Avaliação do risco de doenças genéticas

Para investigar o risco genético, a frequência da alteração genética em células germinativas humanas é estimada por extrapolação de dados provenientes de células germinativas e somáticas de roedores. Para uma estimativa completa do risco genético, é necessário obter uma estimativa da frequência das alterações genéticas transmitidas para a prole (Fig. 9.1).

MECANISMOS DE INDUÇÃO DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS

Danos ao DNA

Os tipos de danos ao DNA variam de quebras simples ou duplas da fita de DNA até ligações cruzadas (*cross-links*) entre as bases entre si ou entre bases e proteínas ou, ainda, pela adição de substâncias químicas às bases do DNA (adutos de DNA) (Fig. 9.2).

Radiações ionizantes Radiações ionizantes, como os raios X, raios gama e partículas alfa, produzem quebras simples e duplas na fita de DNA e uma ampla variedade de lesões nas bases do nucleotídeo. Locais com danos múltiplos ou com acúmulo de lesões parecem ser mais difíceis de serem reparados. Essas lesões múltiplas podem ser formadas no DNA do mesmo evento de deposição de energia da radiação. A proporção relativa das diferentes classes de danos ao DNA varia com o tipo da radiação.

Luz ultravioleta A luz ultravioleta (uma radiação não ionizante) induz duas lesões predominantes, dímeros de pirimidina-ciclobutano e 6,4 fotoprodutos. Essas lesões podem ser quantificadas por métodos químicos e imunológicos.

Substâncias químicas Substâncias químicas podem produzir alterações nas bases tanto diretamente (reativas com DNA), como adutos, quanto indiretamente, pela intercalação de uma substância química entre os pares de base. Muitos compostos eletrofílicos reagem com o DNA, formando produtos de adição covalente (adutos). Bases alquiladas também podem ocasionar perda de base do DNA, formando um sítio apurínico ou apirimídico, comumente chamado de sítio AP. A inserção de bases incorretas nos sítios AP causa mutações.* Adutos volumosos são reconhecidos e reparados pela célula de forma similar às lesões causadas por luz ultravioleta.

Agentes endógenos Agentes endógenos são responsáveis por centenas de danos ao DNA por célula diariamente. A maioria desses danos constitui-se de bases de DNA alteradas (p. ex., 8-oxoguanina e timina glicol) e sítios AP. Os processos celulares que podem levar a danos no DNA são a formação de espécies reativas de oxigênio e desaminação de citosinas e S-metil-citosinas, gerando, como consequência, uracilas e timinas, respectivamente. O processo de replicação de DNA é, por natureza, passível de erro, e uma base** incorreta pode ser adicionada pela DNA polimerase.

Reparo de DNA

Há dois processos que permitem que a célula enfrente os danos ao seu DNA. Se o DNA apresentar danos excessivos, a célula pode entrar em apoptose. Se o dano é menos severo, as células podem repará-lo. Para tanto, elas desenvolvem vários processos de reparo de DNA, permitindo que a estrutura dessa molécula retorne ao seu estado inicial, com o nucleotídeo correto (reparo livre de erro) ou com outro nucleotídeo (reparo passível de erro). Os princípios básicos que regem a maioria dos processos de reparo são o reconhecimento do dano, a remoção do dano (exceto para quebras de cadeia ou clivagem de dímeros de pirimidina), a síntese de reparo de DNA e a ligação.

Reparo por excisão de bases A maior via pela qual os danos de bases do DNA são reparados envolve a remoção da base danificada. O sítio abásico resultante pode ser preenchido pela

* N. de T.: Após a formação de um sítio AP, é necessária a presença de uma enzima com atividade endonucleásica para gerar quebras na ligação fosfodiéster e, assim, permitir a inserção de um nucleotídeo (e não apenas de uma base) por uma DNA polimerase e posterior ligação dos nucleotídeos adjacentes pela DNA ligase. A base é apenas um dos componentes do nucleotídeo.

** N. de T.: Entende-se nucleotídeo.

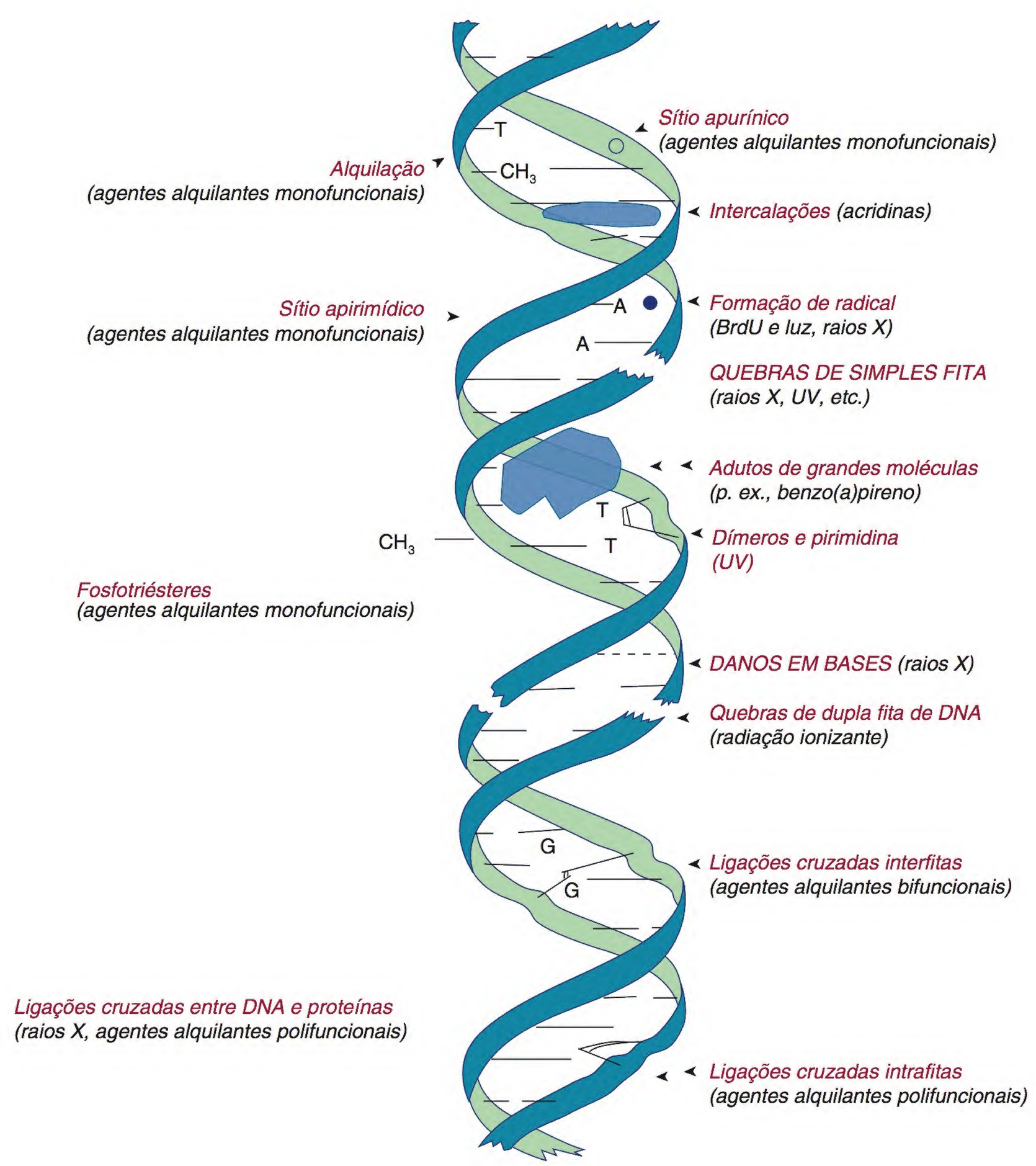


FIGURA 9.2 Espectro de danos ao DNA induzidos por agente físicos e químicos.

DNA polimerase seguido da ligação ao DNA parental.* Locais com danos oxidativos, gerados tanto de forma espontânea quanto induzida, são importantes substratos para o reparo por excisão de bases.

Reparo por excisão de nucleotídeos O sistema de reparo por excisão de nucleotídeos (NER) fornece habilidade à célula para remover lesões volumosas de DNA.** O NER remove um oligonucleotídeo contendo o dano por meio de: reconhecimento do dano, incisão, excisão, síntese de reparo e ligação. Os danos de DNA em genes ativamente transcritos e especificamente na fita transcrita são reparados de forma preferencial e mais rápida do que os danos no restante do genoma.*** Assim, a célula protege a integridade do processo de transcrição.

Reparo de quebras de dupla fita de DNA A sobrevivência celular é seriamente comprometida pela presença de quebras cromossômicas. Quebras duplas de DNA não reparadas desencadeiam uma ou mais respostas celulares tanto para checar a progressão do ciclo celular quanto para induzir apoptose. Existem duas principais vias de reparo de quebras de dupla fita de DNA: a recombinação homóloga e a junção de extremidades não homólogas (NHEJ).

Recombinação homóloga O reparo de quebras de dupla fita de DNA (e falhas de simples fita) envolve algumas etapas básicas.

* N. de T.: A base danificada é retirada por uma glicosilase, gerando um sítio abásico que será alvo para uma endonuclease gerar uma extremidade 3´OH, para que a DNA polimerase possa inserir um nucleotídeo complementar à fita molde e a DNA ligase ligá-lo ao nucleotídeo preexistente na fita de DNA.

** N. de T.: O NER atua quando as lesões geram grandes distorções na dupla hélice do DNA.

*** N. de T.: Existem dois tipos de NER, o GGR, reparo global do genoma, e o TCR, reparo acoplado à transcrição.

O passo inicial é a produção de uma extremidade 3′ simples fita pela ação de exonucleases ou helicases. Por meio de invasão de fitas, em que a extremidade 3` da fita simples invade a molécula de DNA homóloga não danificada, junto com a síntese de DNA, é formado um complexo de DNA conhecido como junção Holliday. Pela clivagem dessa junção, duas moléculas são produzidas (com ou sem *crossing-over* estrutural), nenhuma delas contendo quebras de DNA.

Recombinação não homóloga Esse tipo de recombinação requer a produção de quebras de dupla fita de DNA, união dos fragmentos de DNA e subsequente religação. Um dos maiores componentes do sistema de reparo NHEJ é uma proteína quinase dependente de DNA (DNA-PK). Essa proteína provavelmente funciona no sentido de alinhar as extremidades quebradas do DNA para facilitar sua ligação ou para servir como um sinal molecular para recrutar outras proteínas de reparo.

Reparo de bases mal emparelhadas O sistema de reparo de DNA por mal emparelhamento funciona para reparar as bases mal emparelhadas. Os passos principais são reconhecimento do dano por uma proteína específica que se liga no local das bases desemparelhadas, estabilização da ligação pela adição de uma ou mais proteínas, corte do DNA a uma certa distância do desemparelhamento, excisão do nucleotídeo da parte desemparelhada, ressíntese e ligação.*

Reparo de O^6-metilguanina por metiltransferase A enzima O^6-metilguanina metiltransferase (MGMT) protege células contra os efeitos tóxicos de agentes alquilantes simples, transferindo o grupo metil da O^6-metilguanina do DNA para um resíduo de cisteína da MGMT. A base contendo o aduto é revertida para a base normal pela enzima que é inativada pela própria reação.

Formação de mutações gênicas

Células somáticas Mutações gênicas, consideradas pequenas alterações na sequência do DNA, confinadas em um único gene, são substituições, pequenas adições e pequenas deleções. A substituição de pares de base é a troca de um nucleotídeo original por um diferente; ela pode, ainda, ser dividida em transições, quando ocorre a substituição de uma purina por outra purina ou pirimidina por outra pirimidina, e transversões, quando a troca é de uma purina por uma pirimidina ou vice-versa. Mutações do tipo de deslocamento do quadro de leitura são adições ou deleções de um ou alguns pares de bases (não em múltiplos de 3) em regiões que codificam para uma proteína.

A grande maioria das mutações chamadas de espontâneas (basais) surge da *replicação* de um molde alterado.** Essas alterações de DNA são tanto o resultado de dano oxidativo como produzidas pela desaminação da 5-metilcitosina gerando uma timina nos sítios CpG, resultando, assim, em transições G:C→A:T.

As mutações gênicas produzidas pela maioria dos agentes químicos e por radiações não ionizantes são substituições de base, deslocamento do quadro de leitura e pequenas deleções. Destas, a maioria é produzida por erros da *replicação* do DNA de um molde com danos. A frequência relativa de mutação será o resultado da competição entre o reparo e a duplicação, ou seja, quanto mais reparo ocorrer antes da replicação, menor será a frequência de mutação para uma determinada quantidade de dano induzido no DNA. Reguladores importantes da competição são os genes de controle do ciclo celular (p. ex., P53), porque se a célula é verificada desde a entrada na fase S no tempo G_1/S, então mais reparo pode ocorrer antes de a célula começar a replicar seu DNA.

Células germinativas O mecanismo de produção das mutações gênicas em células germinativas é basicamente o mesmo que em células somáticas. As radiações ionizantes produzem principalmente deleções via erros no reparo de DNA; a maioria dos agentes químicos induz substituições de base, alteração do quadro de leitura e pequenas deleções por erros de replicação do DNA.

Uma consideração importante para avaliar mutações gênicas induzidas por agentes químicos em células germinativas é a relação entre a exposição e o momento da replicação do DNA (ou seja, se houver dano, ele é capaz de ser reparado antes da replicação?). A célula-tronco espermatogonial é o principal contribuinte para a avaliação de risco genético porque ela está presente, em geral, ao longo de toda a vida reprodutiva de um indivíduo. Cada vez que uma célula-tronco espermatogonial se divide, ela produz uma espermatogônia diferenciada e uma célula-tronco. Essa célula-tronco pode acumular danos genéticos por exposição crônica.

Na ovogênese, o ovócito primário fica parado até antes do nascimento, e não há mais fase S até a formação do zigoto. Por essa razão, o ovócito é resistente à indução de mutações gênicas pela maioria dos agentes químicos.

Formação de alterações cromossômicas

Células somáticas

Alterações cromossômicas estruturais Trocas de cromátides irmãs (SCEs; a troca recíproca entre as cromátides irmãs de um único cromossomo) e mutações gênicas são comuns. Em particular, o DNA danificado serve como um substrato promovendo a alteração cromossômica. Os erros no reparo de DNA que levam à formação de alterações cromossômicas após exposição a radiação ionizante surgem da não ligação das quebras da dupla fita de DNA ou de interação das regiões coincidentemente reparadas durante o reparo por excisão de nucleotídeo (NER). A ligação incorreta dos fragmentos cromossômicos durante o reparo permite a troca cromossômica dentro de um mesmo cromossomo ou entre cromossomos. Erros na ligação de duplas quebras de DNA ou no reparo completo de outros tipos de danos provocam deleções terminais.

A incapacidade de incorporar um fragmento acêntrico nos núcleos filhos durante a anáfase/telófase, ou a incapacidade de um cromossomo inteiro de segregar para os polos celulares na anáfase, pode resultar na formação de micronúcleos residentes no citoplasma. Erros durante a replicação de um molde danificado podem provocar uma variedade de alterações cromossômicas. A maioria delas envolve deleções ou troca de cromátides individuais, mas algumas podem envolver as duas cromátides.

Alterações cromossômicas numéricas Alterações numéricas (p. ex., monossomias, trissomias e poliploidias) podem surgir de

* N. de T.: O reconhecimento de qual fita do DNA contém o nucleotídeo mal incorporado (fita recém-sintetizada) é dado pela metilação da fita molde (que contém a sequência original).

** N. de T.: Que faz uso de uma fita molde com danos no DNA.

erros na segregação cromossômica devido a qualquer uma das várias deficiências no processo do controle mitótico. A alteração de vários componentes celulares pode resultar em falhas na segregação das cromátides irmãs na separação das células filhas ou em erros em separar os cromossomos para cada polo.

Troca de cromátides irmãs As SCEs são produzidas durante a fase S do ciclo celular, e presume-se que sejam consequências de erros no processo de replicação.

Células germinativas A formação de alterações cromossômicas nas células germinativas ocorre basicamente da mesma forma que nas células somáticas, ou seja, pelo reparo incorreto dos danos causados pelas radiações ionizantes e agentes químicos radiomimetizantes durante tratamentos em G1 e G2 e por erros de replicação devido a danos no DNA gerados por radiações em geral e agentes químicos durante a fase S.

Os tipos de alterações cromossômicas que ocorrem nas células germinativas são os mesmos que ocorrem em células somáticas. A segregação de cromossomos específicos durante a meiose influencia a probabilidade de recuperação de uma alteração cromossômica, em particular uma translocação recíproca, na prole de um animal tratado.

ENSAIOS PARA DETECÇÃO DE ALTERAÇÕES GENÉTICAS

Introdução às estratégias de ensaio

Ensaios de genotoxicidade servem para dois objetivos inter-relacionados, mas distintos, na avaliação toxicológica dos agentes químicos: (1) identificação de mutágenos com o objetivo de identificação do perigo e (2) caracterização de relação dose-resposta e mecanismos mutagênicos.

A Tabela 9.1 lista vários ensaios empregados na toxicologia genética. Alguns testes de mutação gênica detectam mutações diretas, enquanto outros detectam reversões. Mutações diretas são alterações genéticas em um gene tipo selvagem e são detectadas por uma mudança no fenótipo causada pela alteração ou perda da função gênica. Em contrapartida, uma mutação reversa ou reversão é uma mutação que restaura a função de um gene em um mutante e, assim, reverte-o para um fenótipo do tipo selvagem. Os ensaios mais simples de mutação gênica dependem de técnicas seletivas para detectar mutações. Pela imposição de condições experimentais nas quais somente células ou organismos que sofreram mutação podem crescer, técnicas seletivas facilitam muito a identificação de células raras que sofreram uma mutação dentre muitas outras que não sofreram mutação.

Estudar mutagênese em animais requer ensaios mais complexos, que variam desde testes baratos de curta duração que podem ser realizados em poucos dias até ensaios complexos para mutação em células germinativas de mamíferos. Em geral, existe uma gradação na qual um aumento na relevância do risco humano implica testes mais caros e elaborados.

Muitos compostos que não são mutagênicos ou carcinogênicos por si só podem ser ativados em mutágenos e carcinógenos pelo metabolismo dos mamíferos. Tais compostos são chamados de promutágenos e procarcinógenos. O sistema de ativação metabólica, mais amplamente usado em ensaios microbianos e culturas celulares, é um sobrenadante pós-mitocondrial do homogenado de fígado de rato adicionado de tampões e cofatores apropriados. A maioria dos ensaios de curta duração citados na Tabela 9.1 requer ativação metabólica exógena para detectar promutágenos, com exceção dos testes realizados com animais.

Apesar de sua utilidade, sistemas de ativação metabólica *in vitro* podem não mimetizar perfeitamente o metabolismo dos mamíferos. Existem diferenças entre os tecidos em relação às reações que ativam ou inativam os compostos exógenos, e os microrganismos da flora intestinal normal podem contribuir para o metabolismo nos testes realizados com mamíferos.

Ensaios de dano e reparo de DNA

Alguns ensaios medem o dano ao DNA em si em vez de mutações. Eles podem medir o dano diretamente, por meio da detecção de adutos químicos ou quebras nas fitas de DNA, ou indiretamente, pela avaliação dos processos de reparo biológico. Adutos no DNA podem ser detectados por marcação com ^{32}P, métodos imunológicos usando anticorpos específicos para adutos ou métodos fluorimétricos, no caso do uso de compostos fluorescentes.

Um método rápido para avaliar danos ao DNA é o ensaio cometa. Nele, células são incorporadas em lâminas de agarose, lisadas para liberar seu DNA e submetidas a eletroforese. O DNA é corado com um corante fluorescente para observação e análise da imagem. Uma vez que fragmentos pequenos de DNA migram mais rapidamente que os fragmentos maiores, um rastro de DNA (semelhante a um cometa) é observado quando este se encontra com muitos danos. A extensão do dano ao DNA pode ser estimada a partir do comprimento e de outros atributos da cauda do cometa. O ensaio cometa vem sendo um sensível indicador de dano ao DNA com grande aplicabilidade entre diferentes espécies, incluindo plantas, vermes, moluscos, peixes e anfíbios.

A ocorrência de reparo no DNA pode servir como um rápido indicador de dano a ele. O ensaio de reparo de DNA mais comum em células de mamíferos é o de síntese não programada de DNA (UDS). A ocorrência de UDS indica que o DNA foi danificado.

Mutações gênicas em procariotos

A forma mais comum de detectar mutações em microrganismos é por meio da seleção de reversão em linhagens que têm necessidade nutricional diferente da dos membros do tipo selvagem da espécie; essas linhagens são denominadas auxotróficas. No teste de Ames, mede-se a frequência de bactérias que independem da histidina que surgem em linhagens com necessidade desse aminoácido na presença ou ausência do agente químico testado. Bactérias auxotróficas (deficientes em um nutriente) são tratadas com o agente químico de interesse e plaqueadas em um meio que é deficiente em histidina; se a colônia sobreviver, é porque houve uma mutação reversa que a permitiu sobreviver na ausência de histidina exógena. O desenvolvimento de ensaios de reversão de mutações específicas para histidina em linhagens de *Salmonella* e de mutações no gene *lacZ* em *Escherichia coli* tornou a identificação das substituições de pares de base específicas mais objetiva.

TABELA 9.1 Visão geral dos ensaios de genotoxicidade

I. Danos ao DNA e ensaios de reparo
- **A.** Detecção direta de dano ao DNA
  - Ensaios de eluição alcalina para quebras de fita de DNA
  - Ensaio cometa para quebras de fita de DNA
  - Ensaio para adutos de agentes químicos no DNA
- **B.** Ensaios bacterianos para dano ao DNA
  - Morte diferencial de linhagens deficientes e selvagens para reparo
  - Indução do sistema SOS devido ao dano no DNA
- **C.** Ensaios para reparo de danos ao DNA em células de mamíferos
  - Síntese de DNA não programada (UDS) em hepatócitos de rato
  - UDS em hepatócitos de roedores *in vivo*

II. Ensaios de mutação gênica em procariotos
- **A.** Ensaios de mutação reversa em bactérias
  - Ensaio de *Salmonella*/microssoma de mamíferos (teste de Ames)
  - Ensaio de reversão do triptofano em *E. coli* WP2
  - Ensaio de substituição de pares de bases específicas com *Salmonella* (teste de Ames II)
  - Ensaio de reversão específica no gene *lac*Z em *E. coli*
- **B.** Ensaios de mutação direta
  - Ensaio do *lacI em E. coli*
  - Resistência a metabólitos tóxicos ou análogos em *Salmonella*

III. Ensaios em eucariotos não mamíferos
- **A.** Ensaios com fungos
  - Mutação direta, reversão e pequenas deleções
  - Troca de cromátides mitótica e conversão de gene em leveduras
  - Aneuploidia mitótica: perda ou ganho de cromossomo em leveduras
  - Não disjunção meiótica em levedura ou *Neurospora*
- **B.** Ensaios com plantas
  - Mutações de genes que afetam a clorofila em sementes ou células cerosas do pólen
  - Mutações em pelo estaminal de Tradescantia
  - Alterações cromossômicas ou micronúcleos em células mitóticas ou meióticas
  - Aneuploidia detectada por pigmentação ou citogenética
- **C.** Ensaios com *Drosophila*
  - Letalidade recessiva ligada ao sexo em células germinativas
  - Ensaios de translocação transmissível
  - Teste de perda de cromossomo sexual por aneuploidia
  - Indução de recombinação mitótica em olhos ou asas

IV. Ensaios de mutação gênica em mamíferos
- **A.** Ensaios *in vitro* para mutação direta
  - Mutações *tk* em linfoma de rato ou células humanas
  - Mutações *hprt* ou *xprt* em *hamster* chinês ou células humanas
- **B.** Ensaios *in vivo* para mutações gênicas em células somáticas
  - *Spot test* em camundongos (teste em células somáticas em lócus específico)
  - Mutações *hprt* (resistência à 6-tioguanina) em linfócitos de roedores
- **C.** Ensaios transgênicos
  - Mutações no gene *lacI* de bactérias em ratos e camundongos do tipo "Big Blue®"
  - Mutações no gene *lacZ* de bactérias em "Muta™ Mouse"
  - Mutações no gene *cII* de fago em camundongo transgênico *lacI* ou *lacZ*
  - Mutações pontuais e deleções no *lac*Z plasmidial em camundongos
  - Mutações pontuais e deleções no gene *delta gpt* em camundongos e ratos

V. Ensaios citogenéticos em mamíferos
- **A.** Alterações cromossômicas
  - Análise de metáfase em cultura de células de *hamster* chinês ou células humanas
  - Análise de metáfase em medula óssea de roedores ou linfócitos *in vivo*
- **B.** Micronúcleos
  - Ensaios de micronúcleo com bloqueio de citocinese em linfócitos humanos
  - Ensaios de micronúcleo em linhagens celulares de mamíferos
  - Ensaios *in vivo* de micronúcelo em medula óssea ou sangue de roedores
- **C.** Troca de cromátides irmãs
  - SCE em células humanas ou células de *hamster* chinês
  - SCE em tecidos de roedores, especialmente em medula óssea
- **D.** Aneuploidia em células mitóticas
  - Distúrbios mitóticos vistos por coloração de fusos e cromossomos
  - Hiperploidia* detectada por contagem cromossômica
  - Ganho ou perda de cromossomos em células com citoplasma intacto
  - Ensaio de micronúcleo com sondas centroméricas
  - Hiperploidia em células da medúla óssea de camundongos *in vivo*
  - Ensaios de micronúcleos em medula óssea de camundongos com sondas centroméricas

VI. Mutagênese em células germinativas
- **A.** Medida de dano ao DNA
  - Densimetria molecular baseada em adutos mutagênicos
  - UDS em células germinativas de roedores
  - Ensaios de eluição alcalina para quebra de fitas de DNA em testes com roedores
- **B.** Mutações gênicas
  - Teste de mutações gênicas e deleções em lócus específico em ratos
  - Teste eletroforético em lócus específico em camundongos
  - Mutações dominantes que causam deficiência esquelética ou catarata em ratos
  - Análise de lócus com repetição em "tandem" em camundongos
- **C.** Alterações cromossômicas
  - Análise citogenética em ovócitos, espermatogônias ou espermatócitos
  - Micronúcleos em espermátides de camundongos
  - Teste de translocação transmissível em camundongos
- **D.** Mutações letais dominantes
  - Ensaios de dominância letal em ratos ou camundongos
- **E.** Aneuploidia
  - Análise citogenética para aneuploidia causada por não disjunção
  - Teste de perda de cromossomo sexual por não disjunção ou quebra
  - Ensaios de micronúcleo em espermátides com sonda centromérica
  - FISH com sondas para cromossomos específicos em esperma

* N. de T.: Refere-se à aneuploidia com ganho de cromossomo; hipoploidia é a aneuploidia com perda cromossômica.

Alterações genéticas em eucariotos não mamíferos

Mutações gênicas e alterações cromossômicas A mosca da fruta, *Drosophila*, tem ocupado um lugar proeminente na pesquisa genética em razão dos testes de genes recessivos letais ligados ao sexo (SLRL). Esse teste permite a detecção de mutações letais recessivas em 600 a 800 *loci* no cromossomo X pelo *screening* da presença ou ausência de machos do tipo selvagem em descendentes de cruzamentos especificamente planejados. Um aumento

significativo na frequência de SLRL espontâneos em linhagens derivadas de machos tratados indica mutagênese. O teste SLRL gera informações sobre mutagênese em células germinativas, o que não ocorre em sistemas microbianos e em culturas de células.

Ensaios genéticos e citogenéticos em plantas ainda vêm sendo usados em aplicações especiais, tais como monitoramento *in situ* de mutágenos e exploração do metabolismo de promutágenos por plantas agriculturáveis. O monitoramento *in situ* implica procurar por evidências de mutagênese em organismos que crescem no ambiente de interesse.

Recombinação mitótica Ensaios em eucariotos não mamíferos são importantes para o estudo de recombinação induzida. Efeitos recombinogênicos em leveduras têm sido amplamente usados como indicador geral de dano genético. Os ensaios mais bem caracterizados para os recombinogênicos são aqueles que detectam troca de cromátides irmãs e conversão gênica mitótica na levedura *Saccharomyces cerevisiae*.

Mutações gênicas em mamíferos

Mutações gênicas *in vitro* Ensaios de mutagenicidade em culturas de células de mamíferos apresentam algumas das mesmas vantagens dos ensaios microbianos no que diz respeito à velocidade e ao custo e seguem abordagens relativamente similares. O ensaio mais utilizado para detectar mutações gênicas em células de mamíferos detecta mutações diretas que conferem resistência a uma substância tóxica.

Mutações gênicas *in vivo* Ensaios *in vivo* caracterizam-se por tratar animais e analisar efeitos genéticos nos tecidos apropriados. Mutações podem ser detectadas tanto em células somáticas quanto em células germinativas.

O *spot test* em camundongos é um ensaio genético tradicional para mutações gênicas em células somáticas. Marcas visíveis de alteração no fenótipo em camundongos heterozigotos para genes da coloração da pelagem indicam mutações em células progenitoras das regiões alteradas.

Ensaios de mutação também fornecem informações sobre mecanismos de mutagênese. Substituição de pares de bases e grandes deleções podem ser diferenciadas pelo uso de sondas para o gene de interesse e pelo uso da técnica de *Southern blotting*, pois as substituições de bases também são passíveis de detecção por meio de *blots*.* Mutações gênicas têm sido caracterizadas em nível molecular por análise de sequência de DNA tanto em roedores transgênicos quanto em genes endógenos de mamíferos.

Ensaios transgênicos Os animais transgênicos são produtos da tecnologia do DNA em que o animal contém sequências de DNA exógenas que foram adicionadas ao genoma e transmitidas pelas células germinativas. O DNA exógeno está, portanto, presente em todas as células somáticas do animal.

Camundongos que carregam genes *lac* de *E. coli* usam *lacI* ou *lacZ* como alvo para mutagênese. Após o tratamento mutagênico dos animais transgênicos, os genes *lac* são recuperados do animal, empacotados no fago λ e transferidos para a *E. coli* para a análise mutacional. Placas mutantes são identificadas com base no fenótipo, e as frequências de mutação podem ser calculadas para diferentes tecidos dos animais tratados.

* N. de T.: *Blots* como Dot bot, ASO (oligonucleotídeo alelo específico).

Ensaios citogenéticos em mamíferos

Alterações cromossômicas Ensaios genéticos sem sequenciamento de DNA são indiretos, nos quais se observa um fenótipo e se obtêm conclusões sobre os genes. Em contraste, os ensaios citogenéticos usam a microscopia para observação direta dos efeitos de interesse. Na citogenética convencional, a análise da metáfase é usada para detectar alterações cromossômicas. As células devem ser tratadas durante um período sensível do ciclo celular (normalmente a fase S), e as alterações devem ser analisadas na primeira divisão mitótica após o tratamento. Exemplos de alterações cromossômicas são mostrados na Figura 9.3.

É essencial analisar um número suficiente de células, porque um resultado negativo em uma pequena amostra é equívoco e inconclusivo. Os resultados devem ser registrados para classes específicas de alterações, não apenas como um índice global de alterações por célula.

Na interpretação dos resultados sobre a indução de alterações cromossômicas em culturas de células, resultados positivos questionáveis foram encontrados em altas doses citotóxicas, alta osmolalidade e pH extremos. Embora doses excessivamente elevadas possam levar a falso-positivos, a dificuldade de testar doses suficientemente altas também prejudica a utilidade do teste; portanto, o teste deve ser realizado em uma dose intermediária e estendida a uma dose em que alguma citotoxicidade seja observada.

Ensaios *in vivo* para detecção de alterações cromossômicas envolvem o tratamento dos animais e a coleta de células para a análise citogenética. A principal vantagem desses ensaios é que eles incluem o metabolismo dos mamíferos, o reparo do DNA e a farmacodinâmica. O tecido-alvo é aquele no qual há um grande número de células em divisão e que são facilmente preparadas para a análise, como a medula óssea.

Na análise das células em intérfase por hibridização fluorescente *in situ* (FISH), uma sonda de ácido nucleico é hibridizada com sequências complementares no DNA cromossômico. A sonda é marcada com um corante fluorescente, para que a localização cromossômica à qual a sonda se liga seja visível por microscopia de fluorescência; muitas vezes, são utilizadas sondas que cobrem todo o cromossomo, chamadas de "pintura cromossômica".

A pintura do cromossomo facilita a análise citogenética, pois as alterações são facilmente detectadas devido às cores dos fluoróforos presentes nas metáfases. A FISH permite a contagem de alterações estáveis, tais como translocações e inserções, que não são facilmente detectadas na análise citogenética convencional sem o bandamento cromossômico.

Micronúcleos Micronúcleos são estruturas delimitadas por membranas que contêm fragmentos cromossômicos ou cromossomos inteiros que não foram incorporados a um dos núcleos filhos após a mitose. Os micronúcleos representam geralmente fragmentos cromossômicos acêntricos e costumam ser utilizados como indicadores simples de danos cromossômicos. Micronúcleos em linfócitos binucleados humanos são mostrados na Figura 9.4.

Troca de cromátides irmãs A troca de cromátides irmãs, em que os segmentos aparentemente recíprocos foram trocados entre as duas cromátides de um cromossomo, é visível citologicamente por meio da coloração diferencial das cromátides (Fig.

FIGURA 9.3 Alterações cromossômicas induzidas por raio X em células de ovário de *hamster* chinês (CHO). *A*. Uma deleção cromatídica (▶). *B*. Uma troca de cromátides chamada trirradial (▶). *C*. Uma pequena deleção (▶) intersticial que resultou de quebras cromossômicas. *D*. Uma metáfase com mais de uma alteração: um anel cêntrico mais um fragmento acêntrico (▶) e um cromossomo dicêntrico mais um fragmento acêntrico (→).

9.5). Ensaios de SCE são indicadores gerais da exposição a agentes mutagênicos, e não uma medida de efeitos mutagênicos.

Aneuploidia Ensaios de aneuploidia incluem a contagem do número de cromossomos, a detecção de micronúcleos que contêm cinetócoros e a observação de fusos mitóticos anormais ou de associação do cromossomo com o fuso em células nas quais o fuso e o cromossomo foram corados de forma diferenciada.

A presença do cinetócoro (região do cromossomo que se fixa ao fuso) em um micronúcleo indica que ele pode conter um cromossomo inteiro. A aneuploidia pode, portanto, ser detectada por meio de anticorpos anticinetócoros com uma marcação fluorescente ou FISH com uma sonda de DNA específica para o centrômero. As frequências de micronúcleos atribuíveis à aneuploidia e a efeitos clastogênicos podem, portanto, ser determinadas simultaneamente pela tabulação de micronúcleos com e sem cinetócoros.

Mutagênese em células germinativas

Mutações gênicas Ensaios em células germinativas de mamíferos fornecem a melhor base para avaliação de riscos em células germinativas humanas. Ensaios com mamíferos permitem a avaliação da mutagênese em diferentes estágios da célula germinativa. Estágios finais da espermatogênese são frequentemente reconhecidos como os mais sensíveis à mutagênese, mas espermatócitos, espermátides e espermatozoides são transitórios. O estudo de mutagênese em espermatogônias (células-tronco) e ovócitos em repouso é de especial interesse na avaliação de riscos genéticos em razão da persistência dessas fases ao longo da vida reprodutiva.

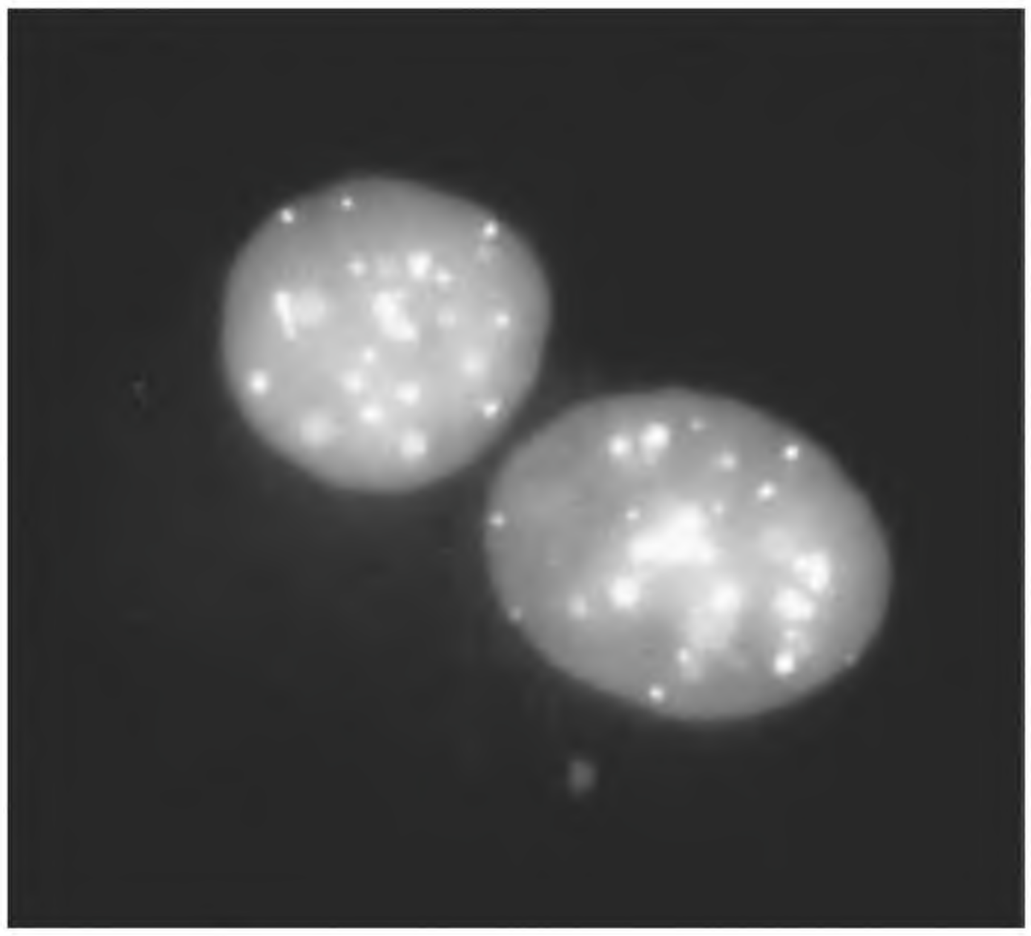


FIGURA 9.4 Micronúcleo em linfócitos humanos. O método de citocalasina B foi usado para inibir a citocinese, resultando em um núcleo binucleado.* O micronúcleo resultou da falha em ser incluído na célula filha após a divisão celular de um fragmento cromossômico acêntrico ou de um cromossomo inteiro (Imagem cortesia de James Allen, Jill Barnes e Barbara Collins).

Alterações cromossômicas O conhecimento da indução de alterações cromossômicas em células germinativas é importante para avaliar os riscos para as gerações futuras. Foi desenvolvido um ensaio de micronúcleo em célula germinativa no qual o dano cromossômico induzido na meiose pode ser observado em espermátides de roedores. Aneuploidias originadas em células germinativas de mamíferos podem ser detectadas citologicamente, por meio da contagem cromossômica para hiperploidia, ou geneticamente, no teste de perda de cromossomo sexual em ratos.

Além da observação citológica, a evidência indireta de alterações cromossômicas é obtida no ensaio de translocação hereditária em camundongos, que mede a redução da fertilidade na prole de machos tratados. Essa pressuposta evidência de rearranjos cromossômicos pode ser confirmada por meio da análise citogenética.

Mutações dominantes letais Ensaios de dominância letal em camundongos ou ratos oferecem um amplo banco de dados sobre a indução de danos genéticos em células da linhagem germinativa de mamíferos. Normalmente, machos são tratados com doses agudas ou subcrônicas do agente de interesse (agente teste) e são, então, acasalados com fêmeas virgens. Durante a gestação, as fêmeas são mortas e necropsiadas para que as anomalias cromossômicas, supostamente responsáveis pela mortalidade embrionária, possam ser caracterizadas e quantificadas.

Desenvolvimento de estratégias de teste

A preocupação com os efeitos adversos da mutação na saúde humana, principalmente a carcinogênese e a indução de danos transmissíveis pelas células da linhagem germinativa, proporcionou uma corrida na busca pela identificação de mutágenos ambientais. Ensaios de toxicidade genética podem ser usados para identificar agentes químicos com potencial mutagênico e, assim, obter informações sobre o mecanismo mutagênico e a relação dose-resposta, contribuindo para a avaliação de risco. Além da testagem de agentes químicos puros, amostras ambientais também podem ser testadas, porque muitos mutágenos estão presentes em misturas complexas. A análise de mistura complexa necessita, frequentemente, da associação dos ensaios de mutagênese com métodos analíticos sofisticados, para a identificação dos compostos presentes na amostra.

A primeira indicação de que um agente químico é um mutágeno reside, muitas vezes, na estrutura química. A presença de potenciais sítios eletrofílicos em uma molécula é um alerta da possibilidade de ela ser mutagênica e carcinogênica, porque esses sítios conferem reatividade com sítios nucleofílicos do DNA.

A avaliação da genotoxicidade de um agente químico necessita de dados de ensaios genéticos padronizados. A sensibilidade refere-se à proporção dos carcinógenos que são positivos no ensaio, enquanto a especificidade é a proporção dos não carcinógenos que são negativos. Sensibilidade e especificidade contribuem para a confiabilidade do ensaio.

Em vez de tentar montar uma bateria de testes complementares, é prudente enfatizar considerações acerca dos mecanismos de ação na escolha dos testes. Um ensaio sensível para mutação gênica (p. ex., teste de Ames) e um ensaio para efeitos clastogênicos em células de mamíferos são essenciais na avaliação de genotoxicidade. Além das mutações gênicas, devem ser avaliados os danos em nível cromossômico com ensaios citogenéticos *in vivo* e *in vitro* em células de mamíferos. Outros ensaios também oferecem um vasto banco de dados sobre a mutagênese química (*Drosophila* SLRL), capacidade única de detectar *endpoints* (i.e., aneuploidia; recombinação mitótica), aplicabilidade em diversos organismos e tecidos (i.e., ensaio cometa) ou especial importância na avaliação do risco genético (i.e., ensaios com células da linhagem germinativa).

MONITORAMENTO DE POPULAÇÕES HUMANAS

Nos processos de avaliação de risco de câncer, os dados para humanos mais utilizados, na ausência de dados epidemiológicos, são aqueles coletados dos ensaios de genotoxicidade e mutagenicidade nas populações humanas. Os estudos mais comumente empregados são os de alteração cromossômica, micronúcleos e trocas de cromátides irmãs em linfócitos periféricos.

O tamanho amostral de cada grupo deve ser grande o suficiente para evitar qualquer fator de confusão devido a influências indevidas. Certas características devem ter correspondência entre os grupos expostos e os não expostos. Estas incluem idade, sexo, tabagismo e características gerais da dieta. Grupos de estudos com 20 ou mais indivíduos podem ser usados como um substituto razoável para correspondência exata porque os fatores de confusão serão menos influentes na frequência de mutações ou alterações cromossômicas em grandes grupos. Em alguns casos, pode ser informativo comparar os grupos expostos com um controle obtido anteriormente,** bem como com um controle realizado durante o próprio ensaio.

* N. de T.: Não é o núcleo que é binucleado, mas a célula. Devido ao bloqueio da citocinese, a célula apresenta dois núcleos, sendo, portanto, binucleada.

** N. de T.: Isto é, controle histórico do laboratório.

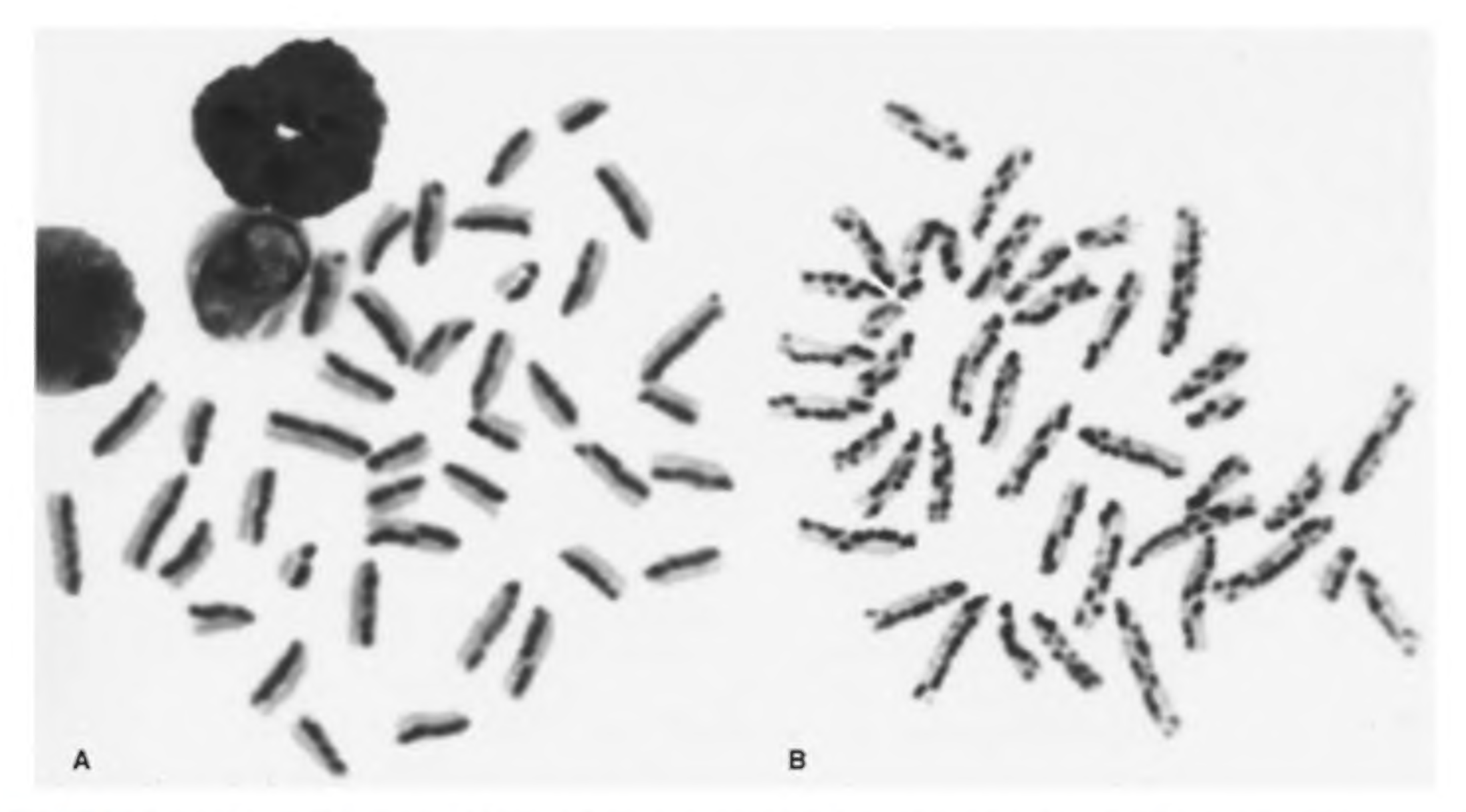


FIGURA 9.5 Trocas de cromátides irmãs (SCEs) em linfócitos humanos. *A*. SCEs em células não tratadas. *B*. SCEs em células expostas ao etil-carbamato. O tratamento resulta em um grande aumento no número de SCEs. (Imagem cortesia de James Allen e Barbara Collins.)

Translocações recíprocas são transmitidas de geração celular em geração, e a frequência pode ser representativa de acumulação ao longo do tempo de exposição. A importância disso é que aberrações cromossômicas estáveis observadas em linfócitos periféricos expostos *in vivo*, mas avaliadas em cultura celular *in vitro*, são produzidas *in vivo* nas células-tronco hematopoiéticas ou em outras células precursoras dos linfócitos periféricos.

NOVAS ABORDAGENS PARA A TOXICOLOGIA GENÉTICA

A habilidade para manipular e caracterizar DNA, RNA e proteínas tem sido essencial para os avanços na compreensão dos processos celulares básicos e como eles podem ser perturbados. Entretanto, o desenvolvimento de biologia molecular sofisticada não implica, por si só, avanço correspondente na utilização na toxicologia genética e sua aplicação na avaliação de risco. Conhecer os tipos de estudos para orientar e saber como interpretar os dados permanece fundamental, como sempre. Existe a necessidade da toxicologia genética para evitar a tentação de usar mais e mais técnicas sofisticadas para solucionar as mesmas questões e, no final, cometer os mesmos erros cometidos no passado.

Avanços na citogenética

O método de coloração convencional do cromossomo com corantes de DNA, como, por exemplo, Giemsa, ou o processo de bandamento cromossômico, requer um considerável gasto de tempo e elevado nível de especialização. O bandamento cromossômico permite avaliar a transmissão de alterações cromossômicas, como translocações recíprocas e inversões, com um grau bastante elevado de precisão. Alterações cromossômicas estáveis são transmitidas das células progenitoras para as células filhas, representando os efeitos da exposição crônica. As alterações mais fáceis de analisar, como cromossomos dicêntricos e deleções, são letais e, portanto, não transmissíveis; refletem apenas uma exposição recente e são possíveis de análise somente após a primeira divisão celular, após a exposição.

Cromossomos específicos, genes específicos e alterações cromossômicas podem ser rapidamente detectados desde o desenvolvimento da FISH. Em princípio, a técnica baseia-se na amplificação do DNA de regiões genômicas específicas, como cromossomos inteiros ou regiões gênicas, e na hibridização desses DNAs amplificados com preparações de cromossomos metafásicos ou núcleo interfásico. Regiões de hibridização podem ser determinadas pelo uso de anticorpos* fluorescentes que detectam modificações de bases de DNA incorporadas durante a amplificação ou pela incorporação de bases fluorescentes durante a amplificação. A marcação fluorescente e as regiões hibridizadas são detectadas por microscopia fluorescente. Alterações em tumores também podem ser detectadas com base no genoma completo. A hibridização genômica comparativa (CGH) tem permitido avaliações precisas e sensíveis das alterações cromossômicas presentes nos tumores. Ela é adaptada para métodos de "varredura" automatizada utilizando *biochips*.**

Os tipos de dados coletados afetarão a compreensão de como os tumores se desenvolvem. Informações sobre a dose-resposta

* N. de T.: Não são utilizados anticorpos no teste da FISH, somente um fragmento de DNA complementar, marcado com fluoróforos.

** N. de T.: Conhecida como array CGH.

característica para uma alteração cromossômica específica como um marcador de câncer podem auxiliar o processo de avaliação do risco da doença pela descrição dos efeitos da baixa exposição que estão abaixo daqueles para os quais a incidência de tumores pode ser avaliada com segurança. Dados citogenéticos também podem melhorar a extrapolação dos resultados obtidos com animais de laboratório para humanos.

Análise molecular das mutações e expressão gênica

Com os avanços tecnológicos, a base exata das mutações em uma sequência de DNA pode ser estabelecida. Com a hibridização dos DNAs teste em microarranjos de oligonucleotídeos, alterações genéticas específicas ou suas consequências celulares podem ser determinadas rápida e automaticamente. A técnica de microarranjo de cDNA permite quantificar mudanças na expressão de centenas ou até mesmo de milhares de genes ao mesmo tempo. O nível de expressão de RNAm é quantificado por meio da hibridização de cDNA isolados com fragmentos de oligonucleotídeos de genes conhecidos ou etiquetas de sequências expressas (EST) previamente depositados no *chip*. Essa tecnologia fornece uma promessa para estabelecer a resposta celular à exposição de agentes químicos e físicos no contexto das vias de expressão gênica de células normais.

CONCLUSÃO

A toxicologia genética demonstrou que a radiação ionizante e os agentes químicos podem induzir mutações e alterações cromossômicas em plantas, insetos e células de mamíferos. Vários ensaios de curto prazo para toxicologia genética identificaram diversos mutágenos e permitiram estabelecer uma relação entre mutágenos e carcinógenos. Esses ensaios fornecem resultados negativos para agentes carcinogênicos não genotóxicos. Processos celulares-chave relacionados à mutagênese têm sido identificados, incluindo múltiplas vias de reparo de DNA, controle de ciclo celular e o papel dos *checkpoints* para assegurar que o ciclo celular não prossiga até que o DNA e estruturas celulares específicas sejam verificados com fidelidade. Desenvolvimentos recentes na toxicologia genética têm melhorado o entendimento sobre os processos celulares básicos e as alterações que podem afetar a integridade do material genético e suas funções. A habilidade de detectar e analisar as mutações em células germinativas de mamíferos continua melhorando e contribuindo para a melhor avaliação das consequências a longo prazo da mutagênese em populações humanas.

REFERÊNCIAS

Choy WN: *Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment.* New York: Marcel Dekker, 2001.

Mendrick DL, Mattes WB: *Essential Concepts of Toxicogenomics.* Totowa, NJ: Humana, 2008.

Sahu SC: *Toxicogenomics: A Powerful Tool for Toxicity Assessment.* Oxford: Wiley-Blackwell, 2008.

Semizarov D, Blomme E: *Genomics in Drug Discovery and Development.* Hoboken, NJ: John Wiley, 2009.

QUESTÕES

1. Os oncogenes:
   a. Mantêm o crescimento e o desenvolvimento celular normal.
   b. Exercem sua ação de maneira recessiva.
   c. São geralmente formados por translocação para uma local com um promotor mais ativo.
   d. Podem ser mutados para formar protooncogene.
   e. Incluem fatores de crescimento e GTPases, mas não fatores de transcrição.

2. Qual dos seguintes agentes NÃO é a fonte mais comum para danos ao DNA?
   a. Radiação ionizante
   b. Luz ultravioleta
   c. Químicos eletrofílicos
   d. Erros da DNA polimerase
   e. Raios X

3. Qual dos seguintes pares de mecanismos de reparo de DNA é o mais provável para introduzir mutações na composição genética de um organismo?
   a. Junção de extremidades não homólogas (NHEJ) e reparo por excisão de bases (BER)
   b. Junção de extremidades não homólogas (NHEJ) e recombinação homóloga
   c. Recombinação homóloga e reparo por excisão de nucleotídeos (NER)
   d. Reparo por excisão de nucleotídeos (NER) e reparo por excisão de bases (BER)
   e. Recombinação homóloga e reparo de bases mal emparelhadas

4. Qual das seguintes mutações no DNA NÃO pode ser considerada um deslocamento de quadro de leitura?
   a. Inserção de 5 nucleotídeos
   b. Inserção de 7 nucleotídeos
   c. Deleção de 18 nucleotídeos
   d. Deleção de 13 nucleotídeos
   e. Deleção de 1 nucleotídeo

5. Qual das seguintes mutações de pares de base melhor representa uma mutação de transversão?
   a. $T \rightarrow C$
   b. $A \rightarrow G$
   c. $G \rightarrow A$
   d. $T \rightarrow U$
   e. $A \rightarrow C$

6. Todas as seguintes sentenças sobre a não disjunção durante a meiose são verdadeiras, EXCETO:
   a. Eventos de não disjunção podem acontecer durante a meiose I ou meiose II.
   b. Todos os gametas gerados pelo evento de não disjunção têm um número de cromossomo anormal.
   c. A trissomia do 21 (síndrome de Down) é um exemplo comum de não disjunção.
   d. Em um evento de não disjunção na meiose I, não há separação dos cromossomos homólogos.
   e. A formação incorreta das fibras do fuso é uma causa comum da não disjunção durante a meiose.

7. Qual das seguintes doenças NÃO tem um padrão de herança recessiva?
   a. Fenilcetonúria
   b. Fibrose cística
   c. Doença de Tay-Sachs
   d. Anemia falciforme
   e. Doença de Huntington

8. Qual é a finalidade do ensaio de Ames?
   a. Determinar o limite de radiação UV que a bactéria pode receber antes de ter mutações em seu DNA.
   b. Medir a frequência de aneuploidias em colônias de bactérias tratadas com vários agentes químicos.
   c. Determinar a frequência de uma mutação por reversão que permite o crescimento de colônias bacterianas na ausência de nutrientes vitais.
   d. Medir a taxa de recombinação induzida em fungos tratados com mutágenos.
   e. Medir a indução de mudanças fenotípicas em *Drosophila*.

9. Em ensaios citogenéticos em mamíferos, as alterações cromossômicas são medidas após o tratamento das células em que fase do ciclo celular?
   a. Intérfase
   b. Fase M
   c. Fase S
   d. G1
   e. G2

10. Qual das seguintes moléculas é usada para aferir a quantidade de genes específicos sendo transcritos em RNAm?
   a. Proteína
   b. RNAm
   c. DNA
   d. cDNA
   e. CGH

CAPÍTULO

10

Toxicologia do Desenvolvimento

John M. Rogers e Robert J. Kavlock

ÂMBITO DO PROBLEMA – A EXPERIÊNCIA HUMANA
- **Talidomida**
- **Dietilestilbestrol**
- **Etanol**
- **Fumaça do tabaco**
- **Cocaína**
- **Retinoides**
- **Inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e antagonistas do receptor de angiotensina**

PRINCÍPIOS DA TOXICOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO
- **Períodos críticos de suscetibilidade e *endpoints* de toxicidade**
- **Padrões de dose-resposta e o conceito de limiar de dose**

MECANISMOS E PATOGÊNESES DA TOXICIDADE DO DESENVOLVIMENTO
- **Avanços nas bases moleculares das dismorfogêneses**

FARMACOCINÉTICA E METABOLISMO NA GESTAÇÃO

RELAÇÕES ENTRE TOXICIDADE MATERNA E DO DESENVOLVIMENTO
- **Fatores maternos que afetam o desenvolvimento**
  - Genéticos
  - Doença
  - Nutrição
  - Estresse
  - Toxicidade placentária
  - Toxicidade materna

TOXICIDADE DO DESENVOLVIMENTO POR DESREGULADORES DO SISTEMA ENDÓCRINO
- **Evidência laboratorial em animais**
- **Evidência em humanos**
- **Impacto em *screenings* e ensaios**

AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA MODERNA
- **Diretrizes regulatórias para ensaios *in vivo***
- **Testes com multigerações**
- **Saúde na infância**
- **Estratégias alternativas de ensaios**
- **Epidemiologia**
- **Concordância de dados**
- **Elementos da avaliação de risco**

ALTERNATIVAS PARA O FUTURO

PONTOS-CHAVE

- A toxicidade do desenvolvimento engloba o estudo da farmacocinética, dos mecanismos, das patogêneses e dos resultados provenientes da exposição a agentes ou condições que levam ao desenvolvimento anormal.
- A toxicologia do desenvolvimento inclui teratologia, ou o estudo dos defeitos estruturais congênitos.
- *Gametogênese* é o processo de formação de células germinativas haploides: o óvulo e o espermatozoide.
- *Organogênese* é o período em que a maioria das estruturas corporais é estabelecida. Esse período de maior suscetibilidade para malformações ocorre entre a 3ª e a 8ª semana de gestação em humanos.

ÂMBITO DO PROBLEMA – A EXPERIÊNCIA HUMANA

A gestação bem-sucedida, na população em geral, ocorre em uma frequência surpreendentemente baixa. Estimativas de resultados adversos incluem a perda do feto pós-implantação, 31%; defeitos graves do nascimento, 2 a 3% no nascimento, aumentando para 6 a 7% no primeiro ano de vida, quando mais manifestações são diagnosticadas; defeitos menos graves do nascimento, 14%; baixo peso ao nascimento, 7%; mortalidade infantil (até 1 ano de idade), 1,4%; distúrbios da função neurológica, 16 a 17%. Assim, menos da metade de todas as gestações humanas resulta no nascimento de uma criança completamente normal e saudável. Centenas de produtos químicos são teratogênicos; a maioria deles produz defeitos congênitos por um mecanismo desconhecido. Todavia, a Tabela 10.1 lista produtos químicos, classes de compostos químicos ou condições capazes de alterar o desenvolvimento pré-natal em humanos.

Talidomida

Em 1960, foi registrado, na Alemanha Ocidental um grande aumento no número de recém-nascidos com raras malformações nos membros por amelia (ausência de membros) ou graus variados de focomelia (redução dos ossos longos dos membros). Doenças cardíacas congênitas, anomalias oculares, intestinais e renais, e malformações auriculares externas e internas também estavam associadas. A talidomida, identificada como o agente causador, foi utilizada em várias partes do mundo no combate à insônia e para amenizar náuseas e vômitos típicos da gestação. Não apresentava nenhuma toxicidade aparente ou propriedades geradoras de dependência ao ser humano adulto ou a animais expostos a doses terapêuticas.

Como resultado dessa catástrofe, agências reguladoras desenvolveram requisitos para a avaliação dos efeitos de fármacos durante a gestação.

Dietilestilbestrol

O dietilestibestrol (DES) é um estrógeno não esteroide sintético que foi amplamente utilizado entre 1940 e 1970 nos Estados Unidos para prevenir o aborto. Foi rapidamente associado ao adenocarcinoma de células claras da vagina. Parecia ser necessário que o uso materno do DES ocorresse antes da 18ª semana de gestação para indução de anomalias do trato genital na descendência; a incidência global estimada de alterações não cancerígenas na vagina e no cérvix foi superior a 75%. Nos descendentes masculinos de gestantes expostas, verificou-se uma alta incidência de anomalias do sistema reprodutivo, além de baixo volume de sêmen ejaculado e baixa qualidade do sêmen. O reconhecimento de manifestações latentes e devastadoras da exposição pré-natal ao DES ampliou a magnitude e o alcance do potencial de resultados adversos das exposições intrauterinas. Um estudo recente realizado com camundongos sugere que o aumento da suscetibilidade às anomalias atribuídas à exposição ao DES pode ser passado para as futuras gerações de mães expostas.

Etanol

Embora a toxicidade do desenvolvimento atribuída ao etanol possa ser traçada desde os tempos bíblicos (p. ex., Juízes 13:3-4), somente após a descrição da síndrome alcoólica fetal (SAF), em

TABELA 10.1 Toxicantes relativos ao desenvolvimento humano

Radiação
- Poluição atômica
- Iodo radioativo
- Terapêutica

Infecções
- Citomegalovírus
- Herpes simples vírus I e II
- Parvovírus B-19 (eritema infeccioso)
- Vírus da rubéola
- Sífilis
- Toxoplasmose
- Vírus da varicela
- Vírus da encefalite equina venezuelana

Traumas e desequilíbrios metabólicos maternos
- Alcoolismo
- Amniocentese precoce
- Biópsia de vilo corial (antes do 60º dia)
- Cretinismo
- Diabetes
- Deficiência de ácido fólico
- Hipertermia
- Fenilcetonúria
- Doença reumática e bloqueio cardíaco congênito
- Síndrome de Sjogren
- Tumores virilizantes

Fármacos e produtos químicos
- Aminoglicosídeos
- Hormônios andrógenos
- Inibidores da enzima conversora de angiotensina: captopril, enalapril
- Antagonistas do receptor de angiotensina: sartanas
- Anticonvulsivantes: difenil-hidantoína, trimetadiona, ácido valproico, carbamazepina
- Busulfano
- Monóxido de carbono
- Clorambucil
- Cocaína
- Cumarínicos
- Ciclofosfamida
- Citarabina
- Dietilestilbestrol
- Danazol
- Ergotamina
- Etanol
- Óxido de etileno
- Fluconazol
- Antagonistas de folato: aminopterina, metotrexato
- Iodetos
- Chumbo
- Lítio
- Mercúrio orgânico
- Metimazol
- Azul de metileno
- Misoprostol
- Penicilina
- Bifenilas policloradas
- Quinina (altas doses)
- Retinoides: isotretinoína, etretinato, acitretina
- Tetraciclinas
- Talidomida
- Fumaça de tabaco
- Tolueno
- Vitamina A (altas doses)

1971, houve a aceitação da ocorrência da toxicidade do álcool no desenvolvimento. A SAF compreende dismorfismo craniofacial, atraso no crescimento intrauterino e pós-natal, retardo no desenvolvimento psicomotor e intelectual e outras anomalias não específicas mais ou menos graves.

A exposição *in utero* a menores doses de etanol do que aquelas que produzem completa SAF tem sido associada a uma ampla gama de efeitos, incluindo características isoladas da SAF e formas mais brandas de distúrbios neurológicos e comportamentais, que foram denominadas "distúrbios do espectro alcoólico fetal" (DEAF). O consumo de álcool pode afetar o peso ao nascimento em uma relação dose-dependente.

Fumaça do tabaco

A exposição pré e pós-natal precoce à fumaça do tabaco ou de seus constituintes pode representar a principal causa de doenças do desenvolvimento e morbidades induzidas ambientalmente. Em torno de 25% das mulheres nos Estados Unidos continuam fumando durante a gestação, apesar das ações de programas de saúde que visam coibir esse comportamento. As consequências da exposição à fumaça do tabaco no desenvolvimento incluem abortos espontâneos, morte perinatal, aumento do risco de síndrome de morte súbita infantil (SMSI), aumento do risco de distúrbios do aprendizado, do comportamento e da atenção, e diminuição do peso ao nascer. Um componente da fumaça do tabaco, a nicotina, é sabidamente neuroteratogênica em estudos experimentais com animais e pode, por si só, produzir muitos dos resultados adversos no desenvolvimento associados à fumaça do tabaco. A exposição perinatal a essa toxina pode, também, afetar a morfogênese de ramificação e maturação do pulmão, provocando alteração da função fisiológica. A fumaça do tabaco no meio ambiente (passivo) também representa um risco significativo para a gestante não fumante.

Cocaína

A cocaína é um anestésico local com propriedades vasoconstritoras. Efeitos sobre o feto são complexos e controversos e demonstram a dificuldade em se monitorar a população humana no que se refere a efeitos adversos sobre a reprodução. A precisa verificação da exposição é difícil, pois há muitos fatores de confusão, incluindo condições socioeconômicas e uso concomitante de tabaco, álcool e outras drogas de abuso, que podem estar envolvidos. Além disso, efeitos referidos sobre o feto e a criança (alterações neurológicas e comportamentais) são difíceis de identificar e quantificar. No entanto, os efeitos adversos realmente associados com a exposição humana à cocaína incluem deslocamento da placenta, parto prematuro, microcefalia, alterações do desenvolvimento prosencefálico, diminuição do peso ao nascer, SMSI e uma síndrome de sono anormal do recém-nascido, tremor, má alimentação, irritabilidade e convulsões ocasionais.

Retinoides

A exposição à vitamina A (retinol) pode causar malformações de face, membros, coração, sistema nervoso central e esqueleto. Abortos espontâneos, crianças nascidas com, pelo menos, uma grande malformação e inúmeras crianças expostas apresentando escores de QI abaixo de 85 aos 5 anos de idade têm sido documentados.

Inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA) e antagonistas do receptor de angiotensina

Inibidores da ECA e bloqueadores do receptor de angiotensina são largamente prescritos e, quando administrados na segunda metade da gravidez, são conhecidos por causar oligoidrâmnio, atraso no crescimento fetal, hipoplasia pulmonar, contraturas articulares, hipocalvaria, falência renal neonatal, hipotensão e morte. Alguns estudos sugerem que a exposição no primeiro trimestre gestacional deva ser evitada.

PRINCÍPIOS DA TOXICOLOGIA DO DESENVOLVIMENTO

Alguns princípios básicos da teratologia apresentados por Jim Wilson em 1959 e listados na Tabela 10.2 ainda são válidos.

Períodos críticos de suscetibilidade e *endpoints* de toxicidade

O desenvolvimento é caracterizado por várias mudanças que são orquestradas por uma cascata de fatores reguladores da transcrição gênica ao longo desse período. Vias de sinalização intercelular e intracelular essenciais para o desenvolvimento normal dependem do controle da transcrição, translação e pós-translação. As rápidas mudanças que ocorrem durante o desenvolvimento alteram a natureza do embrião/feto como um alvo para toxicidade. A cronologia de alguns eventos-chave do desenvolvimento em humanos e em espécies de animais experimentais é apresentada na Tabela 10.3.

Gametogênese é o processo de formação de células germinativas haploides: o óvulo e o espermatozoide. Esses gametas se fundem no processo de *fertilização* para formar o *zigoto* diploide, ou embrião unicelular. A gametogênese e a fertilização são vulneráveis a toxicantes.

TABELA 10.2 Princípios gerais da teratologia de Wilson

I.	A suscetibilidade à teratogênese depende do genótipo do feto e do modo como ele interage com os fatores ambientais adversos.
II.	A suscetibilidade à teratogênese varia com a fase de desenvolvimento no momento da exposição a uma influência adversa.
III.	Os agentes teratogênicos atuam de forma específica (mecanismo) nas células e nos tecidos em desenvolvimento para iniciar sequências de eventos anormais no desenvolvimento (patogêneses).
IV.	O acesso de influências adversas aos tecidos em desenvolvimento depende da natureza da influência (agente).
V.	As quatro manifestações anormais do desenvolvimento são: morte, malformação, atraso do crescimento e déficit de função.
VI.	As manifestações de um desenvolvimento anormal aumentam em frequência e grau com o aumento da dose, desde aquela relacionada à ausência de efeito até a letal.

Fonte: Dados de Wilson JG: *Environment and Birth Defects*. Nova York: Academic Spress, 1973, pp. 12-30, Elsevier.

TABELA 10.3 Momentos de eventos-chave no desenvolvimento em algumas espécies de mamíferos[1]

	Rato	Coelho	Macaco	Humano
Formação do blastocisto	3-5	2,6-6	4-9	4-6
Implantação	5-6	6	9	6-7
Organogênese	6-17	6-18	20-45	21-56
Linha primitiva	9	6,5	18-20	16-18
Placa neural	9,5	–	9-21	18-20
Primeiro somito	10	–	–	20-21
Primeiro arco braquial	10	–	–	20
Primeiro batimento cardíaco	10,2	–	–	22
10 somitos	10-11	9	23-24	25-26
Esboço dos membros superiores	10,5	10,5	25-26	29-30
Esboço dos membros inferiores	11,2	11	26-27	31-32
Diferenciação dos testículos	14,5	20	–	43
Septação cardíaca	15,5	–	–	46-47
Fechamento do palato	16-17	19-20	45-47	56-58
Fechamento do canal uretral nos machos	–	–	–	90
Duração da gestação	21-22	31-34	166	267

[1] As idades do desenvolvimento estão em dias de gestação.
Fonte: Dados de Shepard TH: *Catalog of Teratogenic Agents,* 9th ed. Baltimore: The Johns Hopkins Press, 1998.

Após a fertilização, o embrião move-se ao longo da tuba uterina e implanta-se na parede do útero. O período *pré-implantação* consiste principalmente em um aumento no número de células devido à rápida série de divisão celular com pequeno aumento no volume (*clivagem* do zigoto) e cavitação do embrião para formar um blastocele repleto de líquido. Esse estágio, denominado *blastocisto*, contém células destinadas a dar origem ao embrião propriamente e outras células que dão origem às membranas extraembrionárias e às estruturas de sustentação.

Considera-se que a toxicidade durante a pré-implantação geralmente resulte em nenhum ou ligeiros efeitos sobre o crescimento (por conta do crescimento regulado) ou em morte (por danos letais ou falha na implantação). O estabelecimento dos membros e da parte inferior do corpo pode começar nesse momento. Devido à rapidez das mitoses nessa fase de *pré-implantação*, é de se esperar que os agentes químicos que afetam a síntese/integridade do DNA ou os que afetam a formação dos microtúbulos sejam particularmente tóxicos se tiverem acesso ao embrião.

Após a implantação, o embrião sofre *gastrulação*, processo de formação das três camadas primárias: a *ectoderme*, a *mesoderme* e a *endoderme*. Como um prelúdio para a organogênese, o período de gastrulação é bastante suscetível à teratogênese. Um número de toxicantes administrados durante a gastrulação produz malformações do olho, do cérebro e da face. Essas malformações são indicativas de dano à placa *neural anterior*, uma das regiões definidas pelos movimentos celulares da gastrulação.

A formação da placa neural na ectoderme marca o início da *organogênese*, durante a qual se estabelecem os rudimentos da maior parte das estruturas do organismo. Esse período de elevada suscetibilidade a malformações se estende da 3ª à aproximadamente, 8ª semana de gestação na espécie humana. As rápidas modificações da organogênese requerem proliferação celular, migração celular, interação entre células e remodelação morfogênica de tecidos. Dentro da organogênese há períodos de máxima suscetibilidade para cada estrutura em formação. A incidência máxima de cada malformação coincide com o momento crítico de eventos ligados ao desenvolvimento nessas estruturas afetadas.

O final da organogênese marca o início do *período fetal*, que é caracterizado sobretudo pela diferenciação, pelo crescimento e pela maturação fisiológica dos tecidos. Todos os órgãos estão presentes e grosseiramente reconhecíveis, embora ainda não desenvolvidos por completo.

A exposição durante o período fetal está bastante associada a resultados de efeitos sobre o crescimento e a maturação funcional. Anomalias funcionais do sistema nervoso central e dos órgãos reprodutores – incluindo déficits comportamentais, mentais e motores, como também redução na fertilidade – estão entre os possíveis efeitos adversos.

Padrões de dose-resposta e o conceito de limiar de dose

Os efeitos mais importantes da exposição pré-natal, observados no momento do nascimento nos estudos de toxicidade do desenvolvimento, são letalidade embrionária, malformações e atraso no crescimento. Para alguns agentes, esses *endpoints* podem

representar um *continuum* de crescente toxicidade, com baixas doses produzindo atraso no crescimento e altas doses provocando malformações e letalidade.

Outro elemento-chave da relação dose-resposta é o formato de sua curva nos níveis baixos de exposição. Devido ao alto potencial recuperador dos embriões mamíferos, aos mecanismos homeostáticos celulares e às defesas metabólicas maternas, a toxicidade para o desenvolvimento em mamíferos tem sido, em geral, considerada um fenômeno com limiar de dose. A pressuposição de um limiar significa que há um limite de exposição materna abaixo do qual não ocorre resposta adversa porque algum sistema de reparo ou defesa, não bem elucidado, é capaz de evitar os efeitos adversos decorrentes da exposição.

MECANISMOS E PATOGÊNESES DA TOXICIDADE DO DESENVOLVIMENTO

O termo mecanismos refere-se aos eventos em nível celular que iniciam os principais processos do desenvolvimento anormal. As patogêneses incluem as sequelas em nível celular, tissular e de órgão que, ao final, se manifestam em anormalidades. Os mecanismos da teratogênese incluem mutações, quebras cromossômicas, mitoses alteradas, alterações na integridade ou função do ácido nucleico, diminuição do fornecimento de precursores ou substratos, diminuição do fornecimento de energia, alteração das características da membrana, desequilíbrio osmolar e inibição enzimática. Embora essas agressões celulares não sejam exclusivas do desenvolvimento, podem desencadear rapidamente respostas patogênicas específicas no embrião, tais como redução da proliferação celular, morte celular, alteração das interações entre as células, redução da biossíntese, inibição dos movimentos morfogenéticos ou disfunção mecânica das estruturas em desenvolvimento.

A morte celular desempenha função fundamental na morfogênese normal. O termo *morte celular programada* refere-se especificamente à *apoptose*, que está sob controle genético no embrião. A apoptose é necessária para esculpir os dedos a partir da placa da mão e para assegurar uma apropriada conectividade entre o sistema nervoso central e as estruturas distais. As taxas de proliferação celular mudam tanto espacialmente quanto temporalmente durante a ontogênese. Existe um delicado equilíbrio entre proliferação celular, diferenciação celular e apoptose no embrião. Danos ao DNA poderiam levar a perturbações do ciclo celular e morte celular.

O dano ao DNA pode inibir a progressão do ciclo celular na transição da fase G_1-S, no decurso da fase S e na transição G_2-M. Se o dano ao DNA for reparado, o ciclo celular pode retornar ao normal, mas se o dano for muito extenso ou a interrupção no ciclo celular muito longa, a apoptose pode ser desencadeada. A relação entre dano e reparo do DNA, progressão do ciclo celular e apoptose está descrita na Figura 10.1. Devido aos múltiplos pontos de verificação e aos fatores presentes na regulação do ciclo celular e da apoptose, é claro que populações de células diferentes podem responder de forma distinta a estímulos similares, em parte devido à predisposição celular para a apoptose, que pode variar.

Além de afetarem a proliferação e a viabilidade celular, as agressões moleculares e celulares podem lesar processos essenciais, tais como migrações celulares, interações célula-célula,

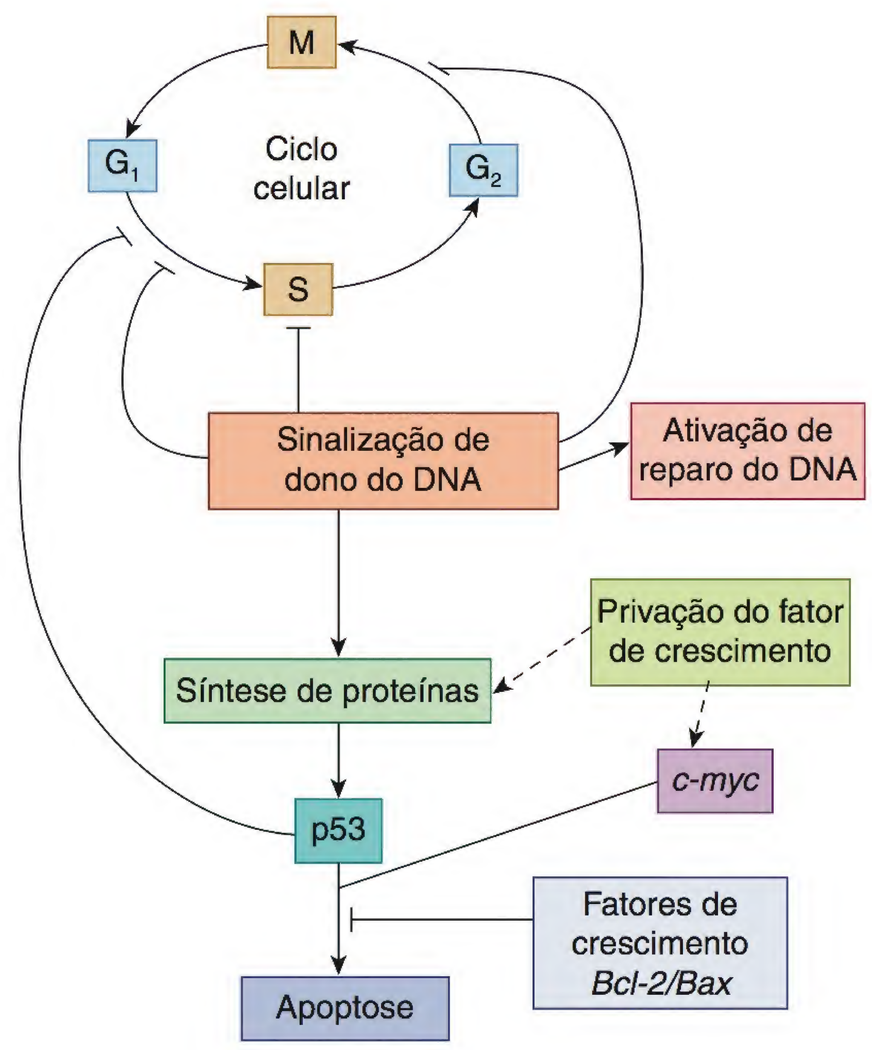


FIGURA 10.1 Relações entre danos ao DNA e interrupção do ciclo celular ou apoptose. O dano ao DNA pode sinalizar a inibição do ciclo celular entre as fases G_1 e S, na fase S ou entre G_2 e mitose. O(s) sinal(is) pode(m), também, ativar mecanismos de reparo do DNA ou síntese de proteínas, incluindo p53, que pode iniciar apoptose. Fatores e produtos de crescimento dos protooncogenes *c-myc* e a família de genes *Bcl-2/Bax*, bem como estado de diferenciação e fase do ciclo celular, são determinantes importantes do resultado final do dano ao DNA embrionário.

diferenciações, morfogênese e metabolismo energético. Embora o embrião tenha mecanismos compensatórios para anular esses efeitos, a produção de uma descendência normal ou com malformações dependerá do equilíbrio entre o dano e o reparo em cada etapa na via patogênica.

Avanços nas bases moleculares das dismorfogêneses

Avanços no sequenciamento de genes e estratégias transgênicas permitem, hoje, a modificação da expressão gênica em pontos específicos no desenvolvimento e em tipos específicos de células. Condicionantes *knockouts* ou *knockins*, indução de expressão gênica e outras técnicas estão sendo usados para estudar de maneira detalhada os efeitos de produtos de genes específicos sobre o desenvolvimento. O uso de oligonucleotídeos sintéticos de sentido reverso permite a restrição temporal e espacial da ablação gênica por hibridização de RNAm na célula, inativando-a. Assim, a função gênica pode ser desligada em pontos específicos.

O ganho de função do gene também pode ser estudado por construções de engenharia genética com um promotor de indução ligado ao gene de interesse. A expressão gênica ectópica pode ser feita em todos os sítios ou em sítio específico dependendo da escolha do promotor que conduzirá a expressão. A superexpressão transitória de genes específicos pode ser realizada pela adição de cópias extras utilizando-se transdução adenoviral.

FARMACOCINÉTICA E METABOLISMO NA GESTAÇÃO

A extensão e a forma como os produtos químicos atingem o produto da concepção são importantes para determinar se o agente pode afetar o desenvolvimento. Os compartimentos materno, placentário e embrionário constituem sistemas independentes, embora interagentes, que sofrem alterações profundas durante todo o curso da gestação. Alterações fisiológicas na placenta podem ter impacto significativo na absorção, na distribuição, no metabolismo e na eliminação de xenobióticos. A diminuição da motilidade intestinal e o aumento da velocidade de esvaziamento gástrico, por exemplo, resultam em maior retenção de substâncias ingeridas na parte superior do sistema digestório na mãe. O débito cardíaco aumenta 50% no decurso do primeiro trimestre na espécie humana e mantém-se elevado durante a gestação, enquanto o volume sanguíneo aumenta e proteínas circulantes e resistência vascular periférica diminuem. O aumento relativo do volume sanguíneo sobre o volume dos eritrócitos conduz a anemia limítrofe e a edema generalizado com 70% de aumento do espaço extracelular. Assim, o volume de distribuição de um produto químico e a quantidade ligada às proteínas podem variar consideravelmente durante a gestação. Outras mudanças também ocorrem nos sistemas renal, hepático e pulmonar. Obviamente, a interação do organismo materno com um produto químico é determinante da extensão da embriotoxicidade.

A placenta também influencia na exposição do embrião por ajudar a regular o débito sanguíneo, oferecer uma barreira de transporte e metabolizar produtos químicos. Ela permite transferência bidirecional de substâncias entre os compartimentos materno e fetal. É importante notar que, virtualmente, qualquer substância presente no plasma materno será transportada até certo ponto pela placenta. A passagem da maioria dos fármacos através da placenta parece ocorrer por simples difusão passiva. Fatores importantes que modificam a concentração e a quantidade de transferências incluem lipossolubilidade, peso molecular, ligação às proteínas, tipo de transferência (difusão passiva e facilitada ou transporte ativo), grau de ionização e metabolismo placentário. O fluxo sanguíneo constitui, provavelmente, o maior elemento limitador para os componentes mais lipossolúveis.

O metabolismo materno de xenobióticos é um determinante importante e variável da toxicidade do desenvolvimento. Para outros *endpoints* de saúde, o campo da farmacogenômica oferece a esperança de aumentar a capacidade de prever subpopulações suscetíveis com base em relações empíricas entre genótipo materno e fenótipo fetal.

RELAÇÕES ENTRE TOXICIDADE MATERNA E DO DESENVOLVIMENTO

Embora a toxicidade do desenvolvimento resulte da agressão ao produto da concepção em nível celular, a agressão pode ocorrer afetando diretamente o embrião/feto, indiretamente pela toxicidade do agente à mãe e/ou à placenta ou pela combinação de efeitos diretos e indiretos. Algumas condições que podem causar efeitos adversos no feto são descritas na Figura 10.2.

A diferenciação entre a toxicidade direta e indireta sobre o desenvolvimento é importante para a interpretação dos testes de segurança em animais prenhes, já que a dose mais alta nesses experimentos é escolhida com base na capacidade de causar alguma toxicidade materna (p. ex., diminuição do consumo de alimento ou água, perda de peso e sinais clínicos). Entretanto, a toxicidade materna definida apenas por tais manifestações grosseiras pouco esclarece sobre as ações tóxicas de um xenobiótico. Quando a toxicidade do desenvolvimento é observada somente na presença de toxicidade materna, os efeitos no desenvolvimento podem ser indiretos (p. ex., causados por condições inapropriadas de crescimento em função de alterações ambientais maternas, em vez de interações diretas do feto com o toxicante). A maior compreensão das mudanças fisiológicas por trás da toxicidade materna observada e a elucidação de sua associação com efeitos no desenvolvimento são necessárias antes que se possa começar a abordar a relevância dessas observações para a avaliação da segurança humana.

Fatores maternos que afetam o desenvolvimento

Genéticos A composição genética da mulher grávida tem sido bem documentada como um determinante no resultado do desenvolvimento. A incidência de lábio leporino (LL) e/ou fenda palatina (FP), que ocorre com mais frequência em brancos do que em negros, tem sido investigada na descendência de casais inter-raciais nos Estados Unidos. Os descendentes de mães brancas apresentaram maior incidência de LL/FP do que os de mães negras após a correção para a etnia paterna, enquanto a descendência de pais brancos não apresentou maior incidência de LL/FP do que a de pais negros após a correção da etnia materna.

Doença Hipertensão crônica, diabetes melito descontrolada e certas infecções na mãe (i.e., citomegalovírus e *Toxoplasma gondii)* são importantes causas de graves tipos de defeitos no feto. Exposição a hipertermia (como febre materna) também está relacionada com defeito neural no feto.

Nutrição Um amplo espectro de insuficiências dietéticas que vão desde má nutrição proteico-calórica até deficiências de vitaminas, oligoelementos e/ou cofatores enzimáticos é conhecido por causar efeitos adversos na gestação. De fato, suplementos de folato em mulheres grávidas podem reduzir a recorrência de defeito do tubo neural em mais de 70%.

Estresse Diversas formas de toxicidade materna podem ter em comum a indução de uma resposta fisiológica de estresse. Várias formas de estresse físico têm sido aplicadas em animais prenhes em uma tentativa de isolar os efeitos do estresse sobre o desenvolvimento. O estresse por ruído durante a gestação em ratas ou camundongos fêmeas prenhes pode produzir toxicidade no desenvolvimento. O estresse por imobilização produz aumento de morte fetal em ratos e malformações da fenda palatina, aumento de número ou fusão de costelas e encefalocele em camundongos. Há uma correlação positiva em humanos entre o estresse e efeitos adversos do desenvolvimento, incluindo baixo peso ao nascer e malformações congênitas.

Toxicidade placentária A placenta é a interface entre a mãe e o feto, fornecendo sustentação, nutrição, trocas gasosas e remoção de resíduos. A placenta também produz hormônios essenciais para a manutenção da gestação, e pode metabolizar e/ou armazenar xenobióticos. A toxicidade placentária pode comprometer

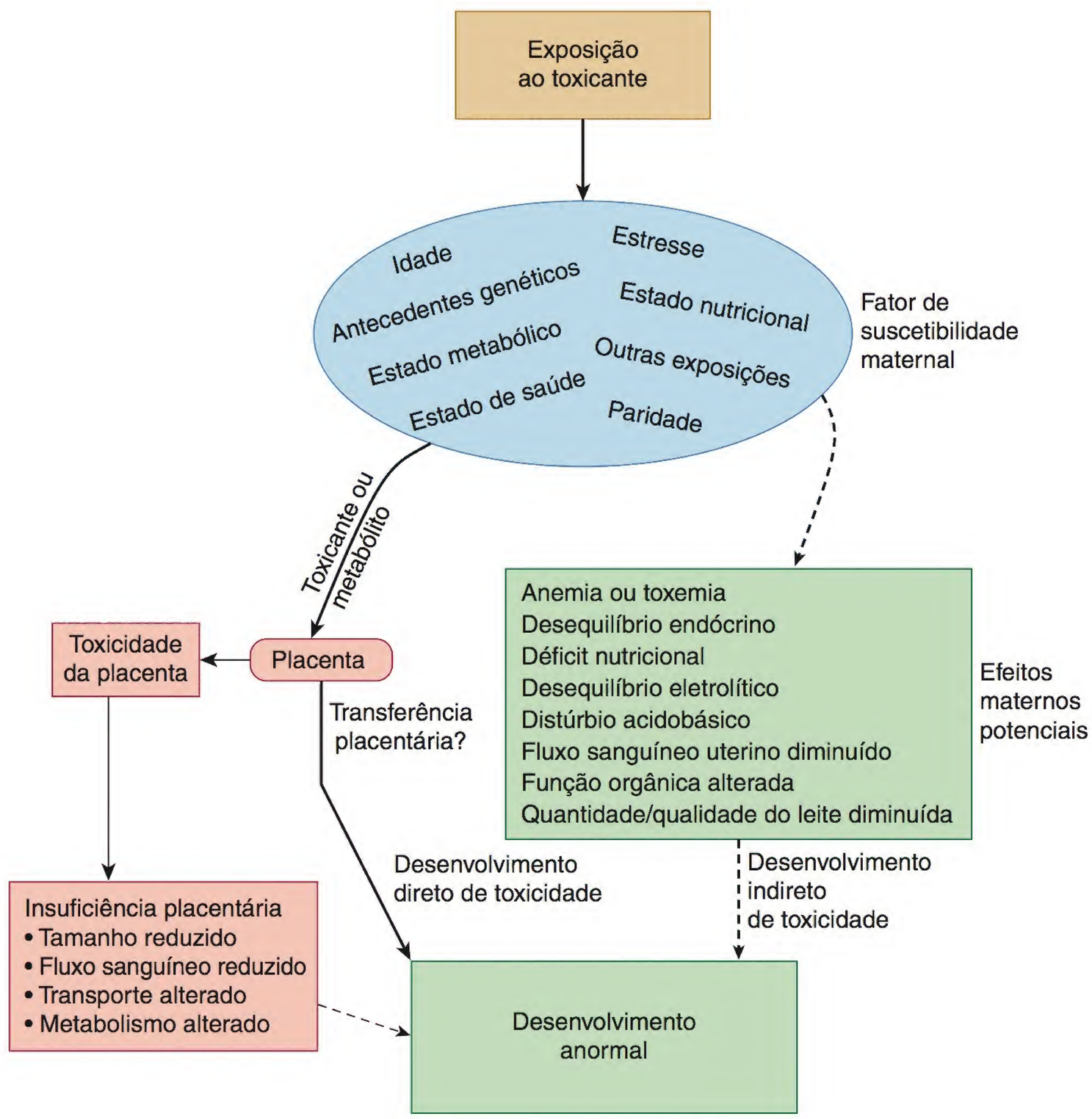


FIGURA 10.2 Inter-relações entre fatores de suscetibilidade materna, metabolismo, indução de alterações fisiológicas maternas ou funcionais, transferência placentária e toxicidade e toxicidade do desenvolvimento. Um toxicante ao desenvolvimento pode causar anormalidades no desenvolvimento por qualquer via ou por uma combinação dessas vias. Fatores de suscetibilidade materna determinam a predisposição da mãe para responder a um insulto tóxico, e os efeitos maternos listados podem afetar negativamente o concepto em desenvolvimento. A maioria dos produtos químicos atravessa a placenta, e, de alguma forma, a placenta também pode ser um alvo para toxicidade. Na maioria dos casos, a toxicidade do desenvolvimento é provavelmente mediada por meio de uma combinação dessas vias.

essas funções. Entre os agentes tóxicos placentários conhecidos estão cádmio, arsênico ou mercúrio, fumaça do tabaco, etanol, cocaína, endotoxina e salicilato de sódio.

Toxicidade materna Uma análise retrospectiva das relações entre toxicidade materna e tipos específicos de efeitos pré-natais encontrou associações espécie-específicas entre a toxicidade materna e efeitos adversos específicos do desenvolvimento. Estes incluem aumento de morte intrauterina, diminuição do peso fetal, aumento do número de costelas e alargamento da pelve renal.

Um número de estudos relaciona diretamente formas específicas de toxicidade materna com toxicidade fetal, incluindo aquelas em que o produto químico testado provoca efeitos maternos que exacerbam a toxicidade sobre o desenvolvimento do agente. Entretanto, é difícil uma clara delimitação da(s) relativa(s) função(ões) da toxicidade materna indireta e da toxicidade embrião/fetal direta.

O diflunisal, um analgésico e anti-inflamatório, causa defeitos no esqueleto axial de coelhos. Doses tóxicas para o desenvolvimento resultam em anemia grave na mãe e depleção de níveis de ATP nos eritrócitos. Teratogenicidade, anemia e depleção de ATP só ocorreram nos coelhos. A teratogenicidade do diflunisal nos animais foi, provavelmente, devida à hipoxia resultante da anemia materna.

A fenitoína, um anticonvulsivante, pode afetar o metabolismo do folato materno em animais de experimentação, e essas alterações podem desempenhar um papel na teratogenicidade desse fármaco. Um mecanismo teratogênico foi proposto relacionando a diminuição da frequência cardíaca materna e hipoxia fetal. Estudos complementares têm demonstrado que a hiperoxia reduz a teratogenicidade da fenitoína em camundongos.

TOXICIDADE DO DESENVOLVIMENTO POR DESREGULADORES DO SISTEMA ENDÓCRINO

Existe a preocupação crescente de que a exposição a produtos químicos capazes de interagir com o sistema endócrino possa representar sérios riscos à saúde. Um desregulador endócrino

é definido como um agente exógeno que interfere na produção, na liberação, no transporte, no metabolismo, na ligação, na ação ou na eliminação de hormônios naturais responsáveis pela manutenção da homeostase e pela regulação do processo de desenvolvimento. Devido ao papel fundamental dos hormônios na orientação da diferenciação de vários tecidos, o organismo em desenvolvimento é particularmente vulnerável a flutuações no tempo ou intensidade de exposição a produtos químicos com atividade hormonal ou anti-hormonal. Produtos químicos pertencentes a uma ampla variedade de classes químicas induzem toxicidade sobre o desenvolvimento por, ao menos, três modos de ação envolvendo o sistema endócrino: (1) funcionando como ligantes de receptores de esteroides; (2) modificando enzimas metabolizadoras de hormônios esteroides; e (3) perturbando a liberação hipotálamo-hipófise de hormônios tróficos.

Evidência laboratorial em animais

Agentes tóxicos ao desenvolvimento estrogênicos e antiestrogênicos incluem DES, estradiol, fármacos antiestrogênicos, como o tamoxifeno e o citrato de clomifeno, alguns praguicidas e produtos químicos industriais. Descendentes do sexo feminino são, em geral, mais suscetíveis a esses toxicantes do que os do sexo masculino, e são achados comuns desenvolvimento puberal anormal, redução da fertilidade e anomalias do sistema reprodutivo.

Antiandrógenos representam outra classe importante de desreguladores endócrinos. As manifestações principais de desenvolvimento de exposição a um antiandrógeno costumam ser restritas aos descendentes do sexo masculino e incluem hipospadias, retenção de mamilos, atrofia de testículos e próstata e diminuição da produção de espermatozoides. Bifenilas policloradas (PCBs) podem agir em vários locais diminuindo o nível de hormônio tireoidiano durante o desenvolvimento e causando baixo peso corporal e déficits auditivos. Podem, também, provocar déficits de aprendizagem e alterar os padrões de atividade locomotora em roedores e macacos.

Evidência em humanos

Pensar que a saúde humana está sofrendo impacto negativo pela exposição a desreguladores endócrinos presentes no meio ambiente é incerto. Pesquisas em humanos são de dois tipos:

1. Observação de efeitos adversos sobre o desenvolvimento e a função do sistema reprodutivo após a exposição a agentes químicos com atividade sabidamente endócrina que estão presentes em medicamentos, alimentos contaminados ou locais de trabalho. Esses estudos tendem a envolver exposições relativamente mais altas a produtos químicos com efeitos endócrinos conhecidos.
2. Evidências epidemiológicas de tendências de aumento de resultados adversos na reprodução e no desenvolvimento que têm uma base endócrina. Por exemplo, têm sido relatadas tendências para criptorquidia, hipospadias, qualidade do sêmen e câncer testicular; porém, devido à falta de avaliação da exposição, tais estudos fornecem evidências limitadas da relação causa-efeito.

Impacto em *screenings* e ensaios

As descobertas sobre as alterações reprodutivas do desenvolvimento durante as primeiras fases da vida pela exposição a desreguladores endócrinos auxiliaram na revisão imediata dos testes de avaliação de segurança tradicionais. Estes, agora, incluem avaliações do ciclo estral da fêmea, motilidade e morfologia espermática em ambas as gerações, parental e F1, idade de puberdade na geração F1, histopatologia de órgãos-alvo, distância anogenital na geração F2 e número de folículos primordiais nas gerações parental e F1. Uma importante modificação, que visa melhoria na detecção de desreguladores endócrinos para o novo protocolo de testes de toxicidade do desenvolvimento pré-natal, foi a expansão do período de exposição do fim da organogênese (i.e., fechamento do palato) até o fim da gestação, com o intuito de incluir o período de desenvolvimento da diferenciação urogenital.

AVALIAÇÃO DE SEGURANÇA MODERNA

A experiência com agentes químicos que têm o potencial de induzir toxicidade ao desenvolvimento indica que ambos os ensaios, os de animais de laboratório e os de vigilância da população humana (p. ex., estudos epidemiológicos), são necessários para fornecer proteção adequada à saúde pública.

Diretrizes regulatórias para ensaios *in vivo*

Protocolos de ensaios, novos e internacionalmente aceitos, dependem da investigação para atender ao objetivo principal de detectar e trazer à luz qualquer indicação de toxicidade à reprodução. Elementos-chave de vários ensaios estão descritos na Tabela 10.4. O objetivo geral desses estudos é identificar o NOAEL, que é o nível de dose máxima que não produz aumento significativo de efeitos adversos na descendência.

Testes com multigerações

Informações referentes à toxicidade do desenvolvimento podem ser obtidas a partir de estudos com animais expostos à substância-teste continuamente por uma ou mais gerações. Para mais informações sobre este assunto, sugere-se a leitura do Capítulo 20 deste livro.

Saúde na infância

Bebês e crianças diferem tanto qualitativa quanto quantitativamente dos adultos em suas exposições a resíduos de praguicidas em alimentos porque apresentam diferenças na composição da dieta e nos padrões de consumo e atividades, como engatinhar pelo chão ou solo, colocar mãos e objetos estranhos na boca e levantar poeira e sujeira durante as brincadeiras. Mesmo o tipo de suas atividades (p. ex., próximas ao solo) pode afetar sua exposição a alguns toxicantes. Além das diferenças de exposições, as crianças estão crescendo e se desenvolvendo, tornando-se mais suscetíveis a alguns tipos de agressores. Efeitos de exposição durante a primeira infância, incluindo efeitos neurocomportamentais e câncer, podem não ser aparentes até idades mais avançadas. O debate sobre a abordagem a ser utilizada na avaliação de risco, considerando bebês e crianças, continua.

Estratégias alternativas de ensaios

Vários protocolos de testes alternativos foram propostos para refinar, reduzir ou substituir a regulamentação-padrão para

TABELA 10.4 Resumo das diretrizes de protocolos regulatórios *in vivo* para avaliação da toxicidade do desenvolvimento

Estudo	Exposição	*Endpoint* avaliado	Comentários
Segmento I: fertilidade e estudo geral da reprodução	Machos: 10 semanas antes do acasalamento Fêmeas: 2 semanas antes do acasalamento	Desenvolvimento dos gametas, fertilidade, viabilidade pré e pós-implantação, parto e lactação	Avalia a capacidade reprodutiva de machos e fêmeas após a exposição cobrindo um ciclo espermático completo ou vários ciclos estrais
Segmento II: teste de teratogenicidade	Implantação (ou acasalamento) até o fim da organogênese	Viabilidade, peso e morfologia (externa, visceral e esquelética) de pouco antes da concepção até o nascimento	Curta exposição para prevenir a adaptação metabólica materna e provocar uma alta exposição ao embrião durante a gastrulação e organogênese. Opção de doses no início para agentes bioacumulativos ou aqueles que impactam a nutrição materna. Opção de doses no final abrange o desenvolvimento do sistema reprodutivo masculino e crescimento e maturação fetal
Segmento III: estudo perinatal	Último trimestre da gestação até a lactação	Sobrevivência pós-natal, crescimento e morfologia externa	Destinada a observar efeitos no desenvolvimento da competência funcional dos principais órgãos durante o período perinatal e que podem ser relativamente mais sensíveis a efeitos adversos neste momento
ICH 4.1.1: protocolo de fertilidade	Machos: 4 semanas antes do acasalamento Fêmeas: 2 semanas antes do acasalamento	Machos: peso e histologia dos órgãos reprodutores, contagem e motilidade espermática Fêmeas: viabilidade dos fetos da metade ao final da gestação	Melhor avaliação dos *endpoints* para a reprodução dos machos; menor duração do tratamento do que o Segmento I
ICH 4.1.2: efeitos no desenvolvimento pré-natal e pós-natal, incluindo a função materna	Implantação até o fim da lactação	Toxicidade relativa para gestantes *versus* fêmeas não gestantes; viabilidade pós-natal, crescimento, desenvolvimento e déficits funcionais (incluindo comportamento, maturação e reprodução)	
ICH 4.1.3: efeitos no desenvolvimento embrionário/fetal	Implantação até o fim da organogênese	Viabilidade e morfologia (externa, visceral e esquelética) do feto imediatamente antes do nascimento	Estudo similar ao Segmento II. Normalmente conduzido em duas espécies (roedor e não roedor)
OECD 414: desenvolvimento pré-natal	Implantação (ou acasalamento) até o dia anterior à secção cesariana	Viabilidade e morfologia (externa, visceral e esquelética) do feto imediatamente antes do nascimento	Estudo similar ao Segmento II. Normalmente conduzido em duas espécies (roedor e não roedor)

avaliação da toxicidade pré-natal, que é restrita a ensaios em mamíferos (Tab. 10.5). Esses testes alternativos podem ser agrupados em ensaios com base em cultura de células, cultura de embriões *in vivo* (incluindo espécies não mamíferas) e testes *in vivo* de curta duração. Inicialmente, esperava-se que as abordagens alternativas fossem aplicáveis de forma global a todos os produtos químicos e auxiliassem na priorização de ensaios em larga escala. Na verdade, dados a complexidade da embriogênese e os inúmeros mecanismos e sítios-alvo dos potenciais teratogênicos, talvez tenha sido irrealista ter esperado que um único ensaio ou mesmo uma pequena bateria de testes serviria como um pré-teste de triagem para avaliar a atividade dos agentes químicos em geral.

Uma exceção na pouca aceitação dos pré-testes como ensaios alternativos para detectar a toxicidade no desenvolvimento é o teste *in vivo* Chernoff/Kavlock. Nesse teste, fêmeas prenhes são expostas durante o período de maior organogênese a um número limitado de doses próximas àquelas que induzem toxicidade materna, e a descendência é avaliada por um breve período neonatal quanto a malformações externas, crescimento e viabilidade. Esse teste tem-se mostrado confiável para um grande número de classes e agentes químicos.

Epidemiologia

A epidemiologia da reprodução estuda as associações entre exposições específicas do pai ou da mulher gestante e seu produto da concepção e o resultado da gestação. A probabilidade da ligação de uma particular exposição com uma série de relatos de caso aumenta com a raridade do defeito, a raridade da exposição na população, a origem em uma pequena população, um curto espaço de tempo para estudo e uma plausibilidade biológica para a associação. Em outras situações, como a que ocorre com etanol e ácido valproico, associações são procuradas quer via um estudo caso-controle, quer via um de coorte. Ambas as abordagens exigem apuração precisa das consequências anormais e das exposições e um estudo populacional de um efeito significativo, para detectar um risco elevado. Outro desafio para os epidemiologistas é a alta porcentagem de gestações humanas malsucedidas

TABELA 10.5 Breve levantamento das metodologias alternativas de teste para a toxicidade do desenvolvimento

Ensaio	Descrição resumida e avaliação dos *endpoints*
Tumor ovariano de rato	Células tumorais de ovário de rata marcadas colocadas em placas de cultura com discos revestidos de concanavalina A por 20 minutos. O *endpoint* é a inibição da fixação das células ao disco.
Mesênquima palatal de embriões humanos	Crescimento em cultura de linhagem de células do mesênquima palatal de embriões humanos. Avaliação do número de células após 3 dias.
Cultura em micromassa	Células do mesencéfalo ou dos brotos dos membros são dissociadas de embriões de rato e cultivadas em cultura de micromassa por 5 dias. Avaliam-se proliferação de células e marcadores bioquímicos de diferenciação.
Teste com células--tronco embrionárias (CTE) de ratos	Avalia-se a viabilidade de CTEs de ratos e células 3T3 em placas de 96 poços após 3 e 5 dias. Crescimento de CTEs por 3 dias em suspensão de gotas forma corpos embrioides que são banhados e examinados após 10 dias para diferenciação em cardiocitócitos.
Cultura de células neuronais da retina de embrião de pintos	Células neuronais da retina de embriões de pintos com 6,5 dias são dissociadas e cultivadas em cultura suspensa em rotação por 7 dias. *Endpoints* incluem agregação celular, crescimento, diferenciação e marcadores bioquímicos.
Drosophila	Larvas de moscas cultivadas desde a postura dos ovos até a eclosão dos adultos. Moscas adultas são examinadas à procura de defeitos estruturais específicos (cerdas retorcidas e asas recurvadas).
Hydra	Células de *Hydra attenuata* são agregadas para formar um "embrião artificial" e permitir a regeneração. Compara-se a dose-resposta com aquela para *toxicidade da Hydra* adulta.
FETAX	Embriões de *Xenopus* em fase de média blástula são expostos por 96 horas e avaliados para viabilidade, crescimento e morfologia.
Cultura de embriões inteiros de roedores	Embriões de roedores pós-implantação são cultivados *in vitro* por mais de 2 dias e avaliados para crescimento e desenvolvimento.
Peixe-zebra	Óvulos ou blástulas de peixe-zebra são expostos a produtos químicos na água (pode ser em placas de vários poços) por mais de 4 dias e avaliados para crescimento, desenvolvimento e (em alguns casos) expressão gênica.
Ensaio Chernoff/ Kavlock	Ratas ou camundongos fêmeas prenhes são expostas durante a organogênese até o parto. Avaliam-se crescimento pós-natal, viabilidade e morfologia macroscópia das ninhadas.

relacionadas a exposições específicas que podem não ser detectadas na população em geral. Além disso, com a disponibilidade de diagnósticos pré-natais, gestações de embriões malformados (sobretudo defeitos do tubo neural) são abortadas eletivamente. Com isso, a incidência de resultados anormais ao nascimento pode não refletir a verdadeira frequência de anormalidades, e o termo prevalência, em vez de incidência, é preferível quando o denominador é o número de nascidos vivos em vez do total de gestações.

Outros aspectos particularmente relevantes para a epidemiologia reprodutiva incluem a homogeneidade, registros confiáveis e fatores de confusão. A homogeneidade refere-se ao fato de que um determinado resultado poder ser descrito diferentemente por várias unidades de registro e que pode haver múltiplas origens patogênicas para um dado resultado específico. Relatam-se dificuldades de registro por inconsistências de definições e nomenclatura e por dificuldades em reconhecer ou relembrar os resultados e as exposições. Os pesos ao nascer, por exemplo, são, em geral, determinados e registrados com precisão, mas abortos espontâneos e certas malformações podem não ser. Ainda histórico, fatores de confusão como idade materna e paridade, fatores dietéticos, doenças e uso de fármacos e características sociais devem ser considerados, a fim de controlar as variáveis que afetam tanto a exposição como o resultado.

Estudos epidemiológicos dos resultados anormais sobre a reprodução são, em geral, conduzidos com três objetivos em mente: o primeiro é a pesquisa científica sobre as causas de resultados de nascimento anormais; costuma envolver análise de relatos de caso ou *clusters*; o segundo objetivo é a prevenção, e é dirigido à mais ampla vigilância das tendências de defeitos ao nascimento registrados pelo mundo; e o último objetivo é o de informar o público e providenciar segurança. Estudos de coorte, com sua prospectiva avaliação da exposição e habilidade de monitorar tanto resultados adversos como benéficos, talvez sejam a metodologia mais robusta para abordar a identificação de toxicantes para o desenvolvimento humano.

Informações sobre a suscetibilidade genética diferencial para defeitos do nascimento continuam sendo acumuladas. Esse novo conhecimento promete elucidar as ligações entre genética e suscetibilidade às doenças. A compreensão das bases genéticas da vulnerabilidade para defeitos ao nascimento induzidas ambientalmente permitirá avaliações de risco mais abrangentes e melhor apreciação dos mecanismos de ação dos toxicantes para o desenvolvimento.

Concordância de dados

Estudos da similaridade de respostas obtidas com animais de laboratório e humanos para toxicantes para o desenvolvimento apoiam a teoria de que os resultados de testes laboratoriais são preditivos do potencial de efeitos em humanos. A concordância é mais forte quando existem dados positivos em mais de uma espécie testada. Humanos tendem a ser mais suscetíveis aos toxicantes para o desenvolvimento do que a espécie mais suscetível testada.

Elementos de avaliação de risco

A extrapolação dos dados de testes em animais para avaliar a toxicidade do desenvolvimento segue basicamente duas

direções, uma para fármacos, em que a exposição é voluntária e, em geral, a doses altas, e outra para agentes ambientais, em que a exposição costuma ser involuntária e a doses baixas. Para os fármacos, utilizamos uma classificação para o uso na gestação, em que são utilizadas as letras A, B, C, D e X para classificar a evidência de que um agente químico representa um risco para a concepção humana. Por exemplo, fármacos são classificados na categoria A se estudos bem controlados em gestações humanas não demonstrarem um risco, e na categoria X (contraindicado na gravidez) se estudos em animais ou humanos, ou relatos de investigação ou de pós-comercialização, demonstrarem risco fetal que claramente supere qualquer possibilidade de trazer benefícios para a paciente. O enquadramento na categoria C (riscos que não podem ser descartados) é atribuído quando há falta de estudos em humanos e em animais, quando não existirem ou quando são positivos para o risco fetal, mas os benefícios podem justificar o potencial risco. Categorias B e D representam áreas de preocupação com o risco relativamente menor ou maior, respectivamente.

Para agentes ambientais, o objetivo do processo de avaliação de risco para a toxicidade do desenvolvimento é geralmente definir a dose (concentração), a via, o tempo e a duração da exposição que provoca efeitos à mais baixa dose no modelo de animal de laboratório mais relevante. A exposição associada a esse "efeito crítico" é, então, sujeita a uma variedade de fatores de segurança ou de incerteza, a fim de se obter um nível de exposição que se presuma ser relativamente seguro para o homem. Na ausência de resultados definitivos em testes com animais, certas suposições de enquadramento costumam ser feitas:

1. Um agente que produz um efeito adverso sobre o desenvolvimento em animais de experimentação significará, potencialmente, um risco à espécie humana, após exposição suficiente durante o período do desenvolvimento.
2. Todas as quatro manifestações de toxicidade sobre o desenvolvimento (morte, anomalias estruturais, alterações do crescimento e déficits funcionais) são preocupantes.
3. Os tipos específicos de efeitos sobre o desenvolvimento observados em estudos animais não são necessariamente os mesmos que podem ser produzidos na espécie humana.
4. A espécie mais apropriada é usada para avaliar o risco para humanos quando existem dados (na ausência desses dados é apropriado o uso da espécie mais suscetível).
5. De forma geral, assume-se a existência de um limiar de dose para a curva dose-resposta dos agentes que produzem toxicidade sobre o desenvolvimento.

Um aspecto perturbador e subjetivo da avaliação de risco para toxicantes ao desenvolvimento é a distinção entre efeitos adversos que são prejudiciais à saúde e efeitos menores que não são considerados significantes para a saúde humana. A interpretação do crescimento fetal reduzido em estudos da toxicidade do desenvolvimento ilustra a maioria dessas questões. Considerando que se tem assumido definições de peso baixo ao nascer em humanos e que se tem compreendido que o retardo do crescimento intrauterino provoca elevado risco de mortalidade infantil e retardo mental, há falta de conhecimentos similares em roedores. Outras preocupações surgem das evidências epidemiológicas recentes que sugerem que o peso ao nascimento, em humanos, predispõe ao surgimento de doenças na fase adulta, incluindo hipertensão, doença cardiovascular e diabetes.

TABELA 10.6 As 17 vias de sinalização intercelular utilizadas no desenvolvimento pela maioria dos metazoários

Período durante o desenvolvimento	Via de sinalização
Antes da organogênese; final do crescimento e renovação do tecido	**1.** Via *Wingless-Int* **2.** Via transformação de fator de crescimento β **3.** Via ouriço **4.** Via receptor de tirosina quinase **5.** Via encaixe-Delta **6.** Via citocina (via STAT)
Organogênese e citodiferenciação; final do crescimento e renovação do tecido	**7.** Via interleucina-1-toll nuclear fator kappa B **8.** Via receptor hormônio nuclear **9.** Via apoptose **10.** Via receptor fosfotirosina fosfatase
Fisiologia larval e adulta	**11.** Via receptor guanilato ciclase **12.** Via receptor óxido nítrico **13.** Via receptor acoplado à proteína G (proteína G grande) **14.** Via integrina **15.** Via caderina **16.** Via junção Gap **17.** Via canal cátion controlado por ligante

ALTERNATIVAS PARA O FUTURO

Existem vários mecanismos de desenvolvimento normal que se conservam em diversos animais, incluindo na mosca da fruta, na lombriga, no peixe-zebra, no sapo, no pinto e no rato. Dezessete vias de sinalização intercelulares conservadas são descritas, as quais são usadas repetidamente em diferentes momentos e locais durante o desenvolvimento dessas e de outras espécies animais, bem como em humanos (Tab. 10.6). A conservação natural dessas vias-chave fornece uma forte justificativa científica para a utilização vantajosa desses modelos animais para a toxicologia do desenvolvimento. Esses organismos têm a genética bem conhecida, embriologia e tempos de geração rápidos, e são, também, passíveis de manipulação genética para aumentar a sensibilidade de vias do desenvolvimento específicas ou para incorporar genes humanos para responder questões de extrapolação interespécie.

O aumento da compreensão do polimorfismo genético em humanos e sua contribuição para a suscetibilidade a defeitos do nascimento, o uso de modelos de animais sensíveis (aqui no sentido de nexo causal para extrapolação de altas para baixas doses), o uso de estresse/pontos de verificação como vias de indicação de toxicidade do desenvolvimento, a implementação de sistemas de bioinformática para melhorar o arquivo e a recuperação de dados, o aumento da educação multidisciplinar e pesquisas sobre as causas dos defeitos do nascimento ajudarão a avaliar os riscos dos toxicantes para o desenvolvimento.

REFERÊNCIAS

Hansen DK, Abbott BD: *Developmental Toxicology.* New York: Informa Helthcare, 2009.

Schardein JL, Macina OT: *Human Developmental Toxicants: Aspects of Toxicology and Chemistry.* Boca Raton, FL: CRC Press, 2007.

QUESTÕES

1. O dietilestilbestrol (DES):
   a. Foi usado para tratar doenças do sono de 1940 até 1970.
   b. Foi descoberto por afetar somente a descendência feminina em gestantes expostas.
   c. Afeta bastante o desenvolvimento do cérebro do feto.
   d. A exposição a ele aumenta o risco de adenocarcinoma de células claras da vagina.
   e. Atualmente é usado para tratar pacientes com hanseníase.

2. A exposição precoce (pré-natal) a qual dos teratogênicos a seguir é mais frequentemente caracterizada por dismorfismo craniofacial?
   a. Talidomida
   b. Retinol
   c. Etanol
   d. Fumaça do tabaco
   e. Dietilestilbestrol (DES)

3. O sistema nervoso é proveniente de qual camada germinativa?
   a. Ectoderme
   b. Mesoderme
   c. Placoide epidérmico
   d. Mesoderme paraxial
   e. Endoderme

4. Em qual dos períodos é mais provável que a exposição a um toxicante tenha o MENOR efeito tóxico sobre o feto em desenvolvimento?
   a. Gastrulação
   b. Organogênese
   c. Pré-implantação
   d. Terceiro trimestre
   e. Primeiro trimestre

5. Em relação à exposição pré-natal a toxicantes, qual das afirmativas a seguir é FALSA?
   a. Os principais efeitos incluem retardo do crescimento e malformações.
   b. A exposição a teratogênicos durante períodos importantes do desenvolvimento terá efeitos mais severos ao feto.
   c. Considera-se a existência de um limiar de nível tóxico abaixo do qual o feto é capaz de reparar-se por si só.
   d. O sistema imune do feto é primitivo, de modo que ele tem pouca ou nenhuma capacidade de lutar contra agentes químicos e reparar-se por si só.
   e. A letalidade do embrião torna-se mais provável quando a dose tóxica é aumentada.

6. Qual das seguintes fases do ciclo celular é importante no monitoramento de danos ao DNA e inibição da progressão do ciclo celular?
   a. G_1-S, anáfase, M-G_1
   b. G_1-S, S, G_2-M
   c. S, prófase, G_1
   d. G_2-M, prófase
   e. M-G_1, anáfase

7. Qual das moléculas a seguir NÃO é importante na determinação do resultado final do dano ao DNA embrionário?
   a. p53
   b. Bax
   c. Bcl-2
   d. c-Myc
   e. NF-kB

8. Qual das opções a seguir NÃO é uma resposta fisiológica à gestação?
   a. Aumento do débito cardíaco
   b. Aumento do volume sanguíneo
   c. Aumento da resistência vascular periférica
   d. Diminuição das proteínas plasmáticas
   e. Aumento do espaço extracelular

9. Todas as afirmações a seguir são verdadeiras, EXCETO:
   a. Filhos de mães brancas têm maior incidência de fissura labial ou palatina do que de mães negras, após correção da etnia paterna.
   b. O citomegalovírus (CMV) é uma causa viral comum de defeitos do nascimento.
   c. A suplementação de folato durante a gestação diminui o risco de defeitos do tubo neural.
   d. A fumaça de cigarro e o etanol são tóxicos para a placenta.
   e. Em humanos, há uma correlação negativa entre estresse e baixo peso ao nascer.

10. Qual das seguintes opções NÃO é um mecanismo que envolve o sistema endócrino pelo qual agentes químicos induzem toxicidade do desenvolvimento?
    a. Atuando como ligantes dos receptores de hormônios esteroides.
    b. Desregulando a função normal de enzimas de metabolização de hormônios esteroides.
    c. Perturbando a liberação de hormônios do hipotálamo.
    d. Perturbando a liberação de hormônios da hipófise.
    e. Eliminação de hormônios naturais.

UNIDADE IV TOXICIDADE ÓRGÃO-ALVO

CAPÍTULO 11

Respostas Tóxicas do Sangue

John C. Bloom e John T. Brandt

O SANGUE COMO ÓRGÃO-ALVO

HEMATOPOIESE

TOXICOLOGIA DO ÉRITRON

- **O eritrócito**
- **Alterações na produção de eritrócitos**
- **Alterações na função respiratória da hemoglobina**
  - Efeitos homotrópicos
  - Efeitos heterotrópicos
- **Alterações na sobrevida eritrocitária**
  - Anemia hemolítica não imune
  - Anemia hemolítica imune

TOXICOLOGIA DO LÊUCON

- **Componentes dos leucócitos sanguíneos**
- **Avaliação dos granulócitos**
- **Efeitos tóxicos nos granulócitos**
  - Efeitos na proliferação
  - Efeitos na função
  - Neutropenia tóxica idiossincrática
  - Mecanismos da neutropenia tóxica

LEUCEMOGÊNESE COMO RESPOSTA TÓXICA

- **Leucemias humanas**
- **Mecanismos da leucemogênese tóxica**
- **Agentes leucemogênicos**

TOXICOLOGIA DAS PLAQUETAS E DA HEMOSTASIA

- **Efeitos tóxicos nas plaquetas**
  - O trombócito
  - Trombocitopenia
  - Efeitos tóxicos na função plaquetária
- **Efeitos tóxicos na formação do coágulo de fibrina**
  - Coagulação
  - Síntese diminuída das proteínas da coagulação
  - *Clearance* aumentado dos fatores de coagulação
- **Toxicologia de agentes utilizados para modular a hemostasia**
  - Anticoagulantes orais
  - Heparina
  - Agentes fibrinolíticos
  - Inibidores da fibrinólise

AVALIAÇÃO DE RISCO

PONTOS-CHAVE

- Hematotoxicologia é o estudo dos efeitos adversos de produtos químicos exógenos no sangue e nos tecidos formadores do sangue.
- Dano direto ou indireto a células sanguíneas e a seus precursores inclui hipoxia, hemorragia e infecção.
- A anemia aplástica induzida por xenobióticos é uma doença que coloca a vida em risco, caracterizada por pancitopenia sanguínea periférica, reticulocitopenia e hipoplasia da medula óssea.
- A agranulocitose idiossincrática induzida por xenobióticos pode envolver uma repentina depleção de neutrófilos circulantes concomitante com a exposição, que persiste enquanto o agente ou seus metabólitos estão na circulação.
- Leucemias são doenças proliferativas do tecido hematopoiético originadas de células individuais da medula óssea.
- A trombocitopenia induzida por xenobióticos pode resultar no aumento da destruição plaquetária ou na diminuição da produção plaquetária, que leva a uma diminuição na agregação plaquetária e a doenças de sangramento.
- A coagulação sanguínea é um processo complexo que envolve um número de proteínas cuja síntese ou função podem ser alteradas por vários xenobióticos.

O SANGUE COMO ÓRGÃO-ALVO

Hematotoxicologia é o estudo dos efeitos adversos de produtos químicos exógenos no sangue e nos tecidos formadores do sangue. A distribuição de oxigênio para os tecidos, pelo organismo, mantém a integridade vascular, provendo várias funções imunes efetoras e afetoras necessárias para a defesa do hospedeiro, exigindo uma prodigiosa capacidade proliferativa e regenerativa. As várias células sanguíneas (eritrócitos, granulócitos e plaquetas) são produzidas em uma taxa aproximada de 1 a 3 milhões no adulto saudável; essa característica faz do tecido hematopoiético um alvo particularmente sensível para agentes antimitóticos e citorredutores, como aqueles usados no tratamento do câncer, de infecções e de doenças imunomediadas. Esse tecido também é suscetível a efeitos secundários de agentes tóxicos que afetam o fornecimento de nutrientes como o ferro; à liberação de toxinas e metabólitos, como a ureia; ou à produção de fatores de crescimento vitais, como a eritropoetina. As consequências de danos diretos ou indiretos às células sanguíneas e a seus precursores são previsíveis e potencialmente uma ameaça à vida. Elas incluem hipoxia, hemorragia e infecção.

A hematotoxicologia pode ser considerada como *toxicidade primária*, quando um ou mais componentes sanguíneos são diretamente afetados, ou como *toxicidade secundária*, quando o efeito tóxico é a consequência de outros prejuízos teciduais ou perturbações sistêmicas. A toxicidade primária é vista como um dos sérios efeitos de xenobióticos, particularmente fármacos, sendo extremamente comum, devido à propensão de células sanguíneas refletirem vários efeitos locais e sistêmicos de tóxicos em outros tecidos.

HEMATOPOIESE

A produção de células sanguíneas, ou hematopoiese, é uma sequência altamente regulada de eventos pelos quais precursores de células sanguíneas proliferam e se diferenciam. A medula óssea, no esqueleto axial e membros proximais, é o principal centro de hematopoiese.

Considerando que a função central da medula óssea é a hematopoiese e a linfopoese, ela é também um dos locais do sistema mononuclear fagocitário (SMF), contribuindo monócitos que diferenciam células fagocíticas em outros tecidos. Uma complexa interação de células em desenvolvimento com células estromais, componentes da matriz extracelular e citocinas compõe o *microambiente indutor de hematopoiese*. Cada linhagem é apoiada em um nicho específico, e uma variedade de citocinas e quimiocinas orienta um particular progenitor celular para o nicho apropriado.

TOXICOLOGIA DO ÉRITRON

O eritrócito

Os eritrócitos (células sanguíneas vermelhas, ou RBCs do inglês *red blood cells*) representam o principal veículo para o transporte de oxigênio dos pulmões para os tecidos periféricos e de dióxido de carbono dos tecidos para os pulmões. Os eritrócitos também estão envolvidos como carreadores e/ou reservatórios para fármacos e toxicantes. Xenobióticos podem afetar a produção, a função e a sobrevida dos eritrócitos. Esses efeitos se manifestam com mais frequência como uma mudança na massa de eritrócitos circulantes, em geral resultando em um decréscimo (anemia). Às vezes, agentes que afetam a afinidade da hemoglobina pelo oxigênio induzem um aumento na massa de eritrócitos (eritrocitose). Mudanças no volume plasmático podem alterar a concentração relativa de eritrócitos (e a concentração de hemoglobina) e podem ser confundidas com anemia verdadeira ou eritrocitose.

Dois mecanismos gerais que levam a uma verdadeira anemia são representados ou por um decréscimo de produção ou por um aumento da destruição dos eritrócitos. Os parâmetros usuais de contagem completa do sangue (CBC), incluindo contagem de RBC e concentração de hemoglobina e hematócrito, podem estabelecer a presença da anemia. Dois parâmetros adicionais que são úteis na classificação da anemia são o volume corpuscular médio (VCM) e a contagem de reticulócitos. A destruição aumentada é geralmente acompanhada por um au-

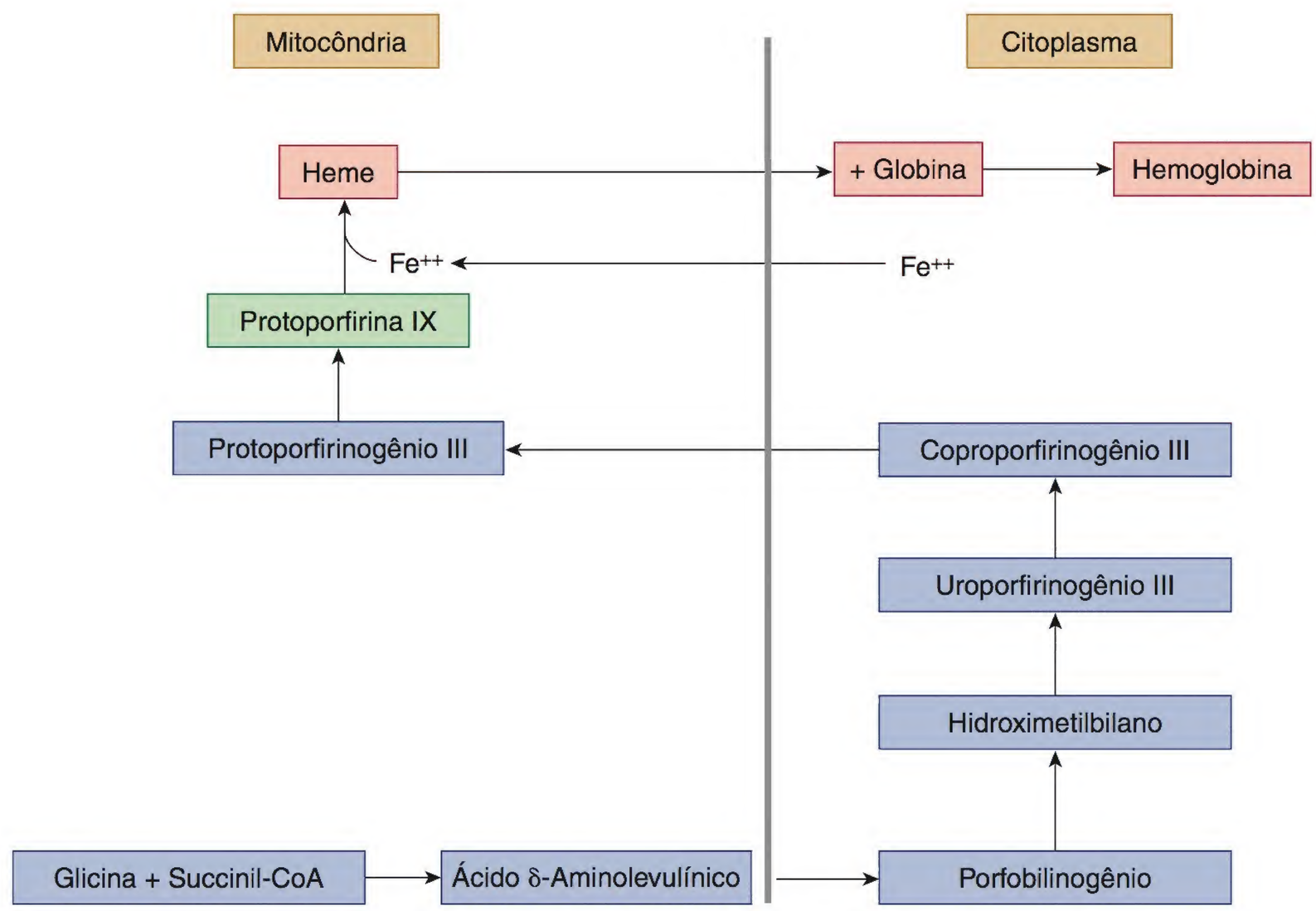


FIGURA 11.1 Síntese do heme e da hemoglobina. O passo inicial da síntese do heme é a síntese mitocondrial do ácido δ-aminolevulínico, passo esse comumente afetado por xenobióticos, incluindo o chumbo. Ferroquelases catalisam a incorporação do ferro ferroso no núcleo tetrapirrólico da protoporfirina IX. A inibição do biociclo formador da protoporfirina IX, como observado nas anemias sideroblásticas, pode causar um desbalanceamento entre a concentração de ferro e a atividade da ferroquelase, resultando em depósito de ferro dentro das mitocôndrias. O acúmulo mitocondrial de ferro é a lesão característica das anemias sideroblásticas.

mento nos reticulócitos (eritrócitos jovens contendo RNA residual). Dois processos relacionados contribuem para o aumento do número de reticulócitos em humanos. Primeiro, a destruição aumentada é acompanhada por uma elevação compensatória na produção da medula óssea, com aumento no número de células sendo liberadas da medula para a circulação. Segundo, durante a hiperplasia eritroide compensatória, a medula libera reticulócitos antecipadamente, e, assim, eles persistem por um período maior no sangue periférico.

Alterações na produção de eritrócitos

A produção eritrocitária é um processo contínuo que depende da constante divisão celular e de uma elevada taxa da síntese de hemoglobina. A hemoglobina do adulto (hemoglobina A) é um tetrâmero constituído de duas cadeias de globina tipo α e de duas cadeias de globina tipo β, cada uma contendo um resíduo heme.

As anormalidades que levam ao decréscimo da síntese de hemoglobina são relativamente comuns (p. ex., deficiência de ferro). Um desbalanceamento entre a produção de cadeias tipo α e β é a base das síndromes talassêmicas congênitas, resultando em decréscimo na produção da hemoglobina e microcitoses. Os xenobióticos podem afetar a síntese das cadeias de globinas e alterar a composição da hemoglobina no interior do eritrócito.

A síntese do heme requer a incorporação do ferro no anel de porfirina (Fig. 11.1). A deficiência de ferro é, em geral, o resultado da deficiência do componente na dieta ou do aumento de perda sanguínea. Alguns fármacos que contribuem para a perda de sangue podem potencializar o risco de se desenvolver *anemia por deficiência de ferro*. Defeitos na síntese do anel porfirínico do heme podem provocar a *anemia sideroblástica*, com acúmulo característico de ferro nos eritroblastos da medula óssea. Esse acúmulo de ferro, precipitado dentro da mitocôndria, causa danos. Uma variedade de xenobióticos (Tab. 11.1) interfere em um ou mais passos da síntese do heme nos eritroblastos, resultando em anemia sideroblástica.

A hematopoiese necessita de uma síntese ativa de DNA e frequentes mitoses. Folatos e vitamina B_{12} são necessários para a manutenção da síntese de timina para a incorporação no DNA. Deficiência de folato e/ou de vitamina B_{12} provoca *anemia megaloblástica*, resultado de uma divisão celular imprópria. Os xenobióticos que podem contribuir para a deficiência de vitamina B_{12} e/ou de folato estão listados na Tabela 11.2.

TABELA 11.1 Xenobióticos associados a anemia sideroblástica

Cloranfenicol	Isoniazida
Quelação/deficiência de cobre	Intoxicação por chumbo
Cicloserina	Pirazinamida
Etanol	Intoxicação por zinco

TABELA 11.2 Xenobióticos associados a anemia megaloblástica

Deficiência de vitamina B_{12}	Deficiência de folato
Antimetabólitos	Neomicina
Ácido *p*-aminosalicílico	Omeprazol
Carbamazepina	Fenobarbital
Colestiramina	Fenitoína
Colchicina	Primidona
Etanol	Sulfasalazina
Tênia de peixe*	Triamtereno
Hemodiálise	Zidovudina
Síndromes de má absorção	

*N. de T.: *Diphyllobothrium latum* (difilobotriose).

Muitos agentes antiproliferativos utilizados no tratamento de malignidades podem inibir a hematopoiese, incluindo a eritropoiese. A toxicidade resultante na medula óssea pode ser dose-limitante. Novos produtos químicos, como a amifostina, estão sendo desenvolvidos e podem proteger a medula óssea contra a toxicidade provocada por esses agentes.

A *anemia aplástica* induzida por fármacos pode representar uma reação previsível ou idiossincrática a xenobióticos. Essa doença de risco vital é caracterizada no sangue periférico por pancitopenia, reticulocitopenia e hipoplasia da medula óssea. Os agentes associados com o desenvolvimento da anemia aplástica estão listados na Tabela 11.3. A *aplasia pura da célula vermelha* é uma síndrome na qual a diminuição na produção medular é limitada pela linhagem eritroide. Pode ser ocasionada por defeitos genéticos, infecção, dano imune mediado, mielodisplasia, fármacos e outros agentes tóxicos.

Alterações na função respiratória da hemoglobina

A hemoglobina transporta oxigênio e dióxido de carbono entre os pulmões e os tecidos. A unidade de globina individual mostra uma cooperatividade na ligação do oxigênio, resultando na familiar forma sigmoide na curva de dissociação do oxigênio (Fig. 11.2).

Efeitos homotrópicos Possivelmente, uma das mais importantes propriedades homotrópicas (intrínsecas) da oxihemoglobina é a lenta, mas consistente, oxidação do ferro heme para o estado férrico para formar a metemoglobina, que não é capaz de ligar e transportar oxigênio. A presença da metemoglobina no tetrâmero da hemoglobina resulta em um deslocamento para a esquerda da curva de dissociação do oxigênio (Fig. 11.2). A combinação do decréscimo do conteúdo de oxigênio e afinidade

TABELA 11.3 Fármacos e produtos químicos associados ao desenvolvimento da anemia aplástica

Alopurinol	Dinitrofenol	Tetraciclina
Anfotericina B	Etossuximida	Paration
Azidotimidina	Felbamato	Penicilina
Benzeno	Ouro	D-Penicilamina
Bismuto	Indometacina	Propiltiouracila
Carbamazepina	Isoniazida	Perclorato de potássio
Carbimazol	Mefloquina	Pirimetamida
Tetracloreto de carbono	Mepazina	Estreptomicina
Carbutamida	Meprobamato	Sulfametoxipiridazina
Cloranfenicol	Mercúrio	Sulfisoxazol
Clordano	Metazolamida	Sulfonamidas
Clordiazepóxido	Meticilina	Tiocianato
Clorfenotano	Metilfeniletilidantoína	Ticlopidina
Clorpropamida	Metilmercaptoimidazol	Tolbutamida
Clorpromazina	Metolazona	Trimetadiona
Clortetraciclina	Arsênio orgânico	Trifluoroperazina
Cimetidina	Fenilbutazona	Tripelenamida
Diclofenaco	Quinacrina	

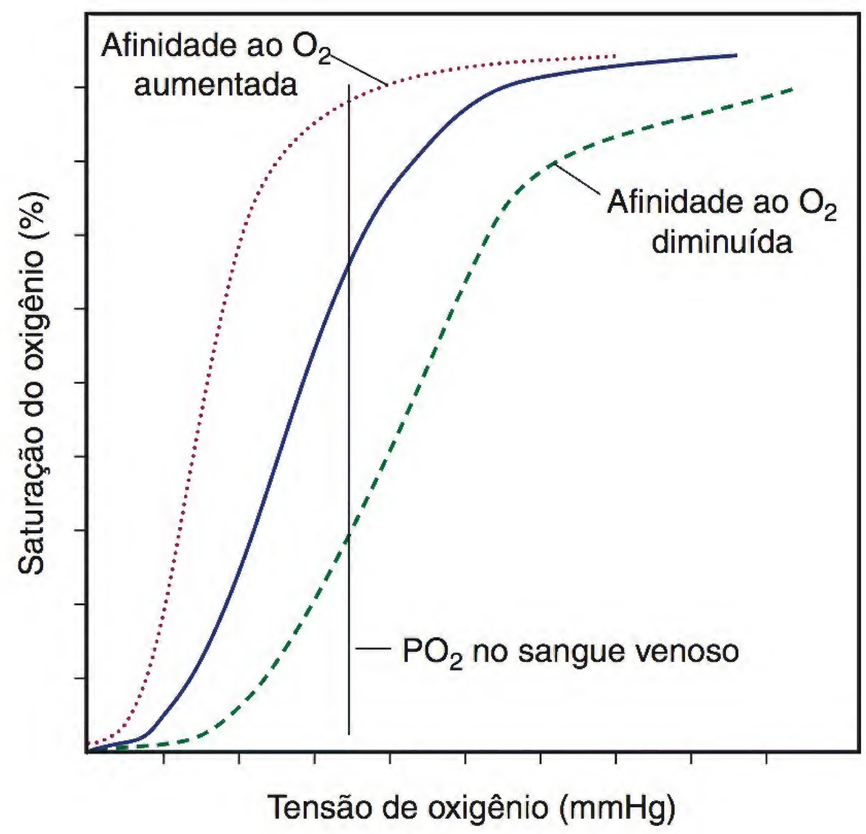


FIGURA 11.2 Curvas de dissociação da hemoglobina pelo oxigênio. A curva normal de dissociação do oxigênio (*linha sólida*) tem uma forma sigmoide devido à interação cooperativa entre as quatro cadeias de globina na molécula de hemoglobina. A hemoglobina totalmente desoxigenada tem relativa baixa afinidade ao oxigênio. Interações do oxigênio com uma metade do heme-ferro induzem uma mudança conformacional nessa cadeia de globina. Por meio das interações de superfície, essa mudança conformacional afeta outras cadeias de globina, causando uma mudança conformacional em todas as cadeias de globina que aumenta sua afinidade para o oxigênio. Parâmetros homotrópicos e heterotrópicos também afetam a afinidade da hemoglobina pelo gás. Um aumento na afinidade ao oxigênio resulta em um deslocamento à esquerda da curva de dissociação do gás. Essa mudança pode diminuir o oxigênio liberado para os tecidos. Um decréscimo na afinidade ao gás resulta em um deslocamento à direita na curva de dissociação do oxigênio, facilitando sua liberação para os tecidos.

aumentada pode prejudicar de maneira significativa a oferta de oxigênio para os tecidos; da mesma forma, o oxigênio não será prontamente liberado da hemoglobina na periferia.

O eritrócito normal apresenta um mecanismo metabólico para reduzir o ferro do heme de volta para o estado ferroso. Falhas desse mecanismo de controle podem levar a níveis aumentados de metemoglobina, ou *metemoglobinemia*. A Tabela 11.4 lista vários produtos químicos que causam a síndrome. A maioria dos pacientes tolera níveis baixos (< 10%) de metemoglobina sem sintomas clínicos. Níveis maiores provocam hipoxia tecidual, que pode ser, eventualmente, fatal.

Efeitos heterotrópicos Existem três efetores heterotrópicos (extrínsecos) principais da função da hemoglobina: pH, a concentração de 2,3-bisfosfoglicerato (2,3-BPG, antigamente designado 2,3-difosfoglicerato) e a temperatura. Um decréscimo no pH (p. ex., ácido lático e dióxido de carbono) diminui a afinidade da hemoglobina ao oxigênio, ou seja, provoca um deslocamento para a direita na curva de dissociação de oxigênio, facilitando o fornecimento do gás para os tecidos (Fig. 11.2). Com o dióxido de carbono e o bicarbonato equilibrados nos pulmões, a concentração de íons de hidrogênio diminui, resultando em um aumento da afinidade da hemoglobina pelo oxigênio, facilitando seu consumo.

TABELA 11.4 Xenobióticos associados a metemoglobinemia

Agentes terapêuticos	Agentes ambientais
Aminobenzeno	Nitrobenzeno
Nitrato de amila	Nitroetano
Corantes e derivados de anilina	Nitroglicerina
Benzocaína	Nitrotoluenos
Dissulfonato de beta-naftol	*orto*-toluidina
Nitrito de butila	Clorato de potássio
Dapsona	Prilocaína
Flutamida	Primaquina
Aditivos da gasolina	Fenacetina
Nitrito de isobutila	Fenazopiridina
Lidocaína	Quinonas
Azul de metileno	Nitrato de prata
Nitratos	Sulfonamida
Óxido nítrico	Trinitrotolueno
Nitritos	

A ligação de 2,3-BPG à desoxi-hemoglobina resulta em uma afinidade reduzida ao oxigênio (um deslocamento para a direita da curva de dissociação da hemoglobina). A mudança conformacional induzida pela ligação ao oxigênio altera o sítio de ligação para 2,3-BPG e resulta em liberação de 2,3-BPG da hemoglobina. Isso facilita a absorção de mais oxigênio para a oferta tecidual. A concentração de 2,3-BPG aumenta sempre que houver hipoxia tecidual, mas pode diminuir na presença de acidose.

A afinidade da hemoglobina pelo oxigênio diminui com o aumento da temperatura corpórea. Isso facilita o fornecimento de oxigênio para os tecidos durante períodos de exercício extremo e de doença febril associada com elevação da temperatura. De forma correspondente, a afinidade ao oxigênio aumenta, e a oferta diminui durante a hipotermia.

A função respiratória da hemoglobina também pode ser prejudicada pelo bloqueio do sítio de ligação com outras substâncias. O monóxido de carbono tem uma taxa relativamente baixa de associação com a desoxi-hemoglobina, mas mostra alta afinidade quando ligado e causa um deslocamento à esquerda na curva de dissociação do oxigênio, comprometendo ainda mais a oferta do gás aos tecidos. O óxido nítrico, um importante vasodilatador que modula o tônus vascular, liga-se avidamente ao ferro heme. Os eritrócitos podem influenciar a disponibilidade do óxido nítrico em algumas partes da circulação, pois este se liga à hemoglobina do eritrócito.

Alterações na sobrevida eritrocitária

Os eritrócitos normalmente circulam no sangue por cerca de 120 dias. Pouquíssima síntese de proteínas ocorre durante esse tempo, considerando que os eritrócitos são anucleados quando

entram na circulação e o RNAm residual é rapidamente perdido durante os primeiros 1 ou 2 dias na circulação. Consequentemente, a senescência ocorre ao longo do tempo até que os eritrócitos envelhecidos sejam removidos pelo baço, no qual o ferro é reconvertido para reutilização na síntese do heme.

Anemia hemolítica não imune

Anemias microangiopáticas A fragmentação intravascular dos eritrócitos origina as *anemias hemolíticas microangiopáticas*. A principal característica desse processo é a presença de esquistócitos (RBCs fragmentadas) no sangue periférico. A formação de filamentos de fibrina na microcirculação é um mecanismo comum para a fragmentação dos eritrócitos. Eles são essencialmente cortados em fragmentos pelos filamentos de fibrina que se estendem por todo o lúmen vascular e impedem o fluxo dos eritrócitos pela rede vascular. A fragmentação excessiva também pode ser vista na presença de vasos anormais.

Doenças infecciosas Doenças infecciosas podem estar associadas com hemólises significantes por efeito direto sobre os eritrócitos ou por processo imune hemolítico. Os eritrócitos são parasitados na malária e na babesiose, provocando sua destruição. Infecções clostridianas estão associadas com a liberação de toxinas hemolíticas que ingressam na circulação e lisam os eritrócitos.

Hemólises oxidativas O oxigênio molecular é uma espécie química reativa e potencialmente tóxica; consequentemente, a função respiratória normal dos eritrócitos gera estresse oxidativo de forma continuada. Existem vários mecanismos que protegem contra danos oxidativos nos eritrócitos, incluindo NADH-diaforase, superóxido dismutase, catalase e a via glutationa.

Os xenobióticos capazes de induzir danos aos eritrócitos estão listados na Tabela 11.5. Esses agentes parecem potencializar as reações de redox normais e são capazes de enganar os mecanismos habituais de proteção. A interação entre esses xenobióticos e a hemoglobina leva à formação de radicais livres que desnaturam proteínas fundamentais, incluindo a hemoglobina, enzimas dependentes de tiol e componentes da membrana eritrocitária. Danos oxidativos significantes geralmente ocorrem quando a concentração do xenobiótico é alta o suficiente para superar os mecanismos protetores normais ou, o que é mais comum, quando há um defeito adjacente nos mecanismos de proteção.

O defeito enzimático mais comum associado com hemólise oxidativa é a deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-PD), uma doença ligada ao sexo caracterizada pela atividade diminuída da G-6-PD. Ela é, muitas vezes, assintomática clinicamente até os eritrócitos serem expostos ao estresse oxidativo da resposta do hospedeiro à infecção ou à exposição a xenobióticos.

Hemólises induzidas por produtos químicos não oxidativos A exposição a alguns xenobióticos está associada com hemólises sem dano oxidativo significante. A inalação de hidreto de arsênio (arsina), por exemplo, pode resultar em hemólises graves, com anemia, icterícia e hemoglobinúria. A intoxicação por chumbo está associada a defeitos na síntese do heme, encurtamento na sobrevida eritrocitária e hemólises.

TABELA 11.5 Xenobióticos associados com lesão oxidativa

Acetanilida	Fenacetina
Ácido aminosalicílico	Fenol
Cloratos	Fenilidrazina
Dapsona	Primaquina
Furazolidona	Fenazopiridina
Hidroxilamina	Sulfoxona de sódio
Azul de metileno	Sulfametoxipiridazina
Ácido nalidíxico	Sulfanilamida
Naftaleno	Sulfasalazina
Nitrofurantoína	Azul de toluidina
Nitrobenzeno	

Anemia hemolítica imune

A destruição imunológica dos eritrócitos é mediada pela interação de anticorpos IgG ou IgM com antígenos expressos na superfície do eritrócito. No caso de anemia hemolítica autoimune, os antígenos são componentes intrínsecos das hemácias do próprio paciente.

Uma série de mecanismos tem sido implicada na ligação de anticorpo mediado por xenobiótico com eritrócitos. Alguns fármacos, dos quais a penicilina é um protótipo, parecem ligar-se à superfície da célula, com o fármaco "estrangeiro" atuando como um *hapteno* e provocando uma resposta imune. Os anticorpos que surgem nesse tipo de resposta somente se ligam aos eritrócitos revestidos pelo fármaco. Outros fármacos, dos quais a quinidina é um protótipo, ligam-se na superfície do eritrócito e induzem uma mudança conformacional em um ou mais componentes da membrana. Um terceiro mecanismo, do qual a α-metildopa é um protótipo, resulta na produção de anticorpos induzidos por fármacos que não pode ser distinguível de anticorpos decorrentes da anemia hemolítica autoimune idiopática.

TOXICOLOGIA DO LÊUCON

Componentes dos leucócitos sanguíneos

O lêucon consiste em leucócitos, ou células brancas do sangue, incluindo os granulócitos, que podem ser subdivididos em neutrófilos, eosinófilos e basófilos; monócitos; e linfócitos. Granulócitos e monócitos são células ameboides nucleadas fagocíticas. Desempenham um papel central na resposta inflamatória e na defesa do hospedeiro. Ao contrário dos eritrócitos, que residem exclusivamente no sangue, granulócitos e monócitos apenas passam pelo sangue em seu caminho para os tecidos extravasculares, nos quais são encontrados em grande número.

Os granulócitos são definidos pelas características de seus grânulos citoplasmáticos conforme aparecem no esfregaço de sangue. Os neutrófilos, maior componente dos leucócitos, são altamente especializados na mediação de inflamações e na ingestão e na destruição de microrganismos patogênicos. Os eosinófilos e

os basófilos modulam inflamações por meio da liberação de vários mediadores.

Avaliação dos granulócitos

No sangue, os neutrófilos estão distribuídos entre *pools circulantes* e *marginais*, os quais são de igual tamanho e estão em constante equilíbrio. Uma contagem de neutrófilos avalia apenas o *pool* circulante, que permanece notavelmente constante (1.800 a 7.500 μL^{-1}) no adulto normal. Durante inflamações, um número aumentado de granulócitos imaturos (não segmentados) pode ser observado no sangue periférico. Em determinadas condições, os neutrófilos podem mostrar alterações morfológicas indicativas de toxicidade.

Efeitos tóxicos nos granulócitos

Efeitos na proliferação O elevado índice de proliferação dos neutrófilos torna esta célula e o *pool* precursor granulocítico particularmente suscetíveis a inibidores de mitoses. Esses efeitos pelo uso de fármacos citotóxicos são geralmente inespecíficos, uma vez que afetam as células da derme, trato gastrintestinal e outros tecidos que se dividem rapidamente. Agentes que afetam neutrófilos e monócitos apresentam um risco maior de sequelas tóxicas, como infecções. Esses efeitos tendem a ser relacionados à dose, com recuperação fagocitária mononuclear precedendo a recuperação neutrofílica.

A mielotoxicidade é comumente observada com agentes quimioterápicos citorredutores de câncer, que muitas vezes agem para inibir a síntese do DNA ou atacar diretamente sua integridade por meio da formação de adutos de DNA ou quebras mediadas por enzimas. Entretanto, celulas não proliferativas, como metamielócitos, bastonetes e neutrófilos maduros, são relativamente resistentes. Considerando o lento ciclo das células-tronco, elas são pouco afetadas por uma simples administração de fármacos citotóxicos. Acredita-se que a exposição contínua a substâncias que afetam as células-tronco seja a causa da mielossupressão mais prolongada.

Efeitos na função O etanol e os glicocorticoides prejudicam a fagocitose e a ingestão de microrganismos. O iohexol e o ioxaglate, componentes de meios de contraste radiográficos, também têm sido responsabilizados por inibir a fagocitose. A produção de superóxidos, requerida para a quimiotaxia e a morte microbiana, é declaradamente reduzida em pacientes que utilizam heroína parenteral, bem como em usuários de opiáceos em tratamento de manutenção com metadona a longo prazo. A quimiotaxia também é prejudicada após o tratamento com sais de zinco de preparações antiacne.

Neutropenia tóxica idiossincrática São preocupantes os agentes que inesperadamente prejudicam os neutrófilos e os precursores granulocíticos induzindo *agranulocitose*, que é caracterizada por uma profunda depleção dos neutrófilos para níveis inferiores a 500 μL^{-1}. Esse dano ocorre em indivíduos especificamente condicionados e por isso é denominado *idiossincrático*.

A agranulocitose idiossincrática induzida por xenobióticos pode envolver uma brusca depressão de neutrófilos circulantes concomitantemente à exposição, a qual pode persistir enquanto o agente ou seus metabólitos permanecerem na circulação. A função hematopoiética costuma ser restaurada quando o agente é detoxificado ou excretado. Substâncias tóxicas que afetam células-tronco não comprometidas induzem falência medular, como pode ser visto na anemia aplástica. Após os agentes afetarem os precursores mais diferenciados, as células-tronco não comprometidas sobreviventes produzem recuperação, desde que o risco de infecção seja controlado com sucesso durante os episódios de leucopenia.

Mecanismos da neutropenia tóxica Na *neutropenia mediada por produtos imunes*, as reações antígeno-anticorpo levam à destruição de neutrófilos periféricos, precursores dos granulócitos ou ambos. Do mesmo modo que acontece com os eritrócitos, um xenobiótico imunogenético pode atuar como um hapteno; o agente deve estar fisicamente presente para causar danos às células ou pode induzir células imunogênicas a produzir anticorpos antineutrófilos, o que não requer a presença do fármaco.

A *neutropenia tóxica não mediada por substâncias imunes* frequentemente mostra uma predisposição genética. Danos diretos podem causar inibição da granulopoiese ou da função neutrofílica. Alguns estudos sugerem que o acúmulo de oxidantes tóxicos gerados pelos leucócitos pode resultar em danos aos neutrófilos.

Exemplos de agentes associados a neutropenias/agranulocitoses imunes e não imunes estão listados na Tabela 11.6.

TABELA 11.6 Exemplos de produtos tóxicos que causam neutropenia idiopática imune e não imune

Fármacos associados com anticorpos de leucócitos	Fármacos não associados com anticorpos de leucócitos
Aminopirina	Alopurinol
Ampicilina	Etambutol
Aprindina	Flurazepam
Azulfidina	Hidroclorotiazida
Clorpropamida	Isoniazida
Clozapina	Fenotiazinas
Fenotiazinas/CPZ	Rifampicina
Dicloxacilina	
Ouro	
Levamisol	
Lidocaína	
Metimazol	
Metiamida	
Fenitoína	
Procainamida	
Propiltiouracil	
Quinidina	
Tolbutamida	

LEUCEMOGÊNESE COMO RESPOSTA TÓXICA

Leucemias humanas

Leucemias são doenças proliferativas do tecido hemopoiético originadas de células individuais da medula óssea. Historicamente, têm sido classificadas como mieloides e linfoides, com referência à maior linhagem dos eritrócitos/granulócitos/trombócitos ou linfócitos, respectivamente. Poucos fenótipos diferenciados têm sido designados como "aguda", incluindo a leucemia linfoblástica aguda (LLA) e a leucemia mieloblástica aguda (LMA), enquanto os bem diferenciados são referidos como leucemias "crônicas", as quais incluem leucemia linfoide crônica (LLC), leucemia mieloide crônica (LMC) e as síndromes mielodisplásicas (SMD).

Mecanismos da leucemogênese tóxica

A LMA é a principal forma de leucemia associada à exposição a fármacos ou a produtos químicos, seguida pelas SMD. Isso representa um *continuum* de uma resposta tóxica que pode ser ligada a uma anormalidade citogenética, em particular à perda de todo ou parte dos cromossomas 5 e 7. Notavelmente, a frequência dessas deleções em pacientes que desenvolvem SMD e/ou LMA após tratamento com agentes alquilantes ou outros agentes antineoplásicos varia entre 67 e 95%, dependendo do estudo. Algumas dessas variações têm sido observadas em pacientes com LMA ocupacionalmente expostos ao benzeno, os quais também mostram aneuploidia com alta frequência do envolvimento do cromossomo 7. A frequência relativamente baixa de deleções nos cromossomos 5 e 7 em mutações *de novo* quando comparadas com LMA secundária sugerem que esses marcadores citogenéticos podem ser úteis na discriminação entre exposições tóxicas e outras etiologias dessa leucemia.

Agentes leucemogênicos

A maioria dos *agentes alquilantes* utilizados na quimioterapia contra o câncer pode causar SMD e/ou LMA. Dos *hidrocarbonetos aromáticos*, somente o benzeno provou ser leucemogênico. O tratamento com *inibidores da topoisomerase II*, etoposida e teniposida pode induzir LMA.

A exposição a *altas doses de radiação* γ *ou de raios X* tem sido, a longo tempo, associada com LLA, LMA e LMC, como demonstrado em sobreviventes das bombas atômicas de Hiroshima e Nagasaki. Menos clara é a associação dessas doenças com baixas doses de radiação secundárias a partículas radioativas ou diagnósticos radiográficos. Outros *agentes controversos* incluem 1,3-butadieno, radiação não ionizante (eletromagnética, micro-ondas, infravermelha, visível e a extremidade do espectro ultravioleta), fumantes de cigarros e formaldeído.

TOXICOLOGIA DAS PLAQUETAS E DA HEMOSTASIA

Hemostasia é um sistema de multicomponentes responsável por prevenir a perda de sangue de locais de dano vascular e por manter o sangue circulante no estado fluido. A perda de sangue é prevenida pela formação do tampão hemostático estável. Os maiores constituintes do sistema hemostático incluem as plaquetas circulantes, uma variedade de proteínas plasmáticas e células endoteliais vasculares. Alterações desses componentes ou a ativação sistêmica desse sistema pode levar a manifestações clínicas de uma hemostasia alterada, incluindo sangramento excessivo e tromboses. O sistema hemostático é um alvo frequente de intervenções terapêuticas, bem como de expressão inadvertida do efeito tóxico de uma variedade de xenobióticos.

Efeitos tóxicos nas plaquetas

O trombócito As plaquetas são essenciais para a formação do tampão hemostático estável na resposta ao dano vascular. Inicialmente, elas aderem à parede lesada. A ativação de uma via de diversos fatores permite ao fibrinogênio e a outras moléculas de adesão multivalentes formar ligações cruzadas entre as plaquetas próximas, resultando na agregação plaquetária. Xenobióticos podem interferir na resposta plaquetária causando trombocitopenia ou afetando a função das plaquetas.

Trombocitopenia Como a anemia, a trombocitopenia pode ser devida ao decréscimo de produção ou ao aumento de destruição. É um efeito colateral comum da quimioterapia intensa, em razão do efeito preditivo de agentes antiproliferativos nos precursores hematopoiéticos. A trombocitopenia é um componente clinicamente significante da anemia aplástica idiossincrática induzida por xenobióticos. Na verdade, a manifestação inicial da anemia aplástica pode ser o sangramento mucocutâneo secundário à trombocitopenia.

A exposição a xenobióticos pode resultar em aumento na destruição das plaquetas imunes mediadas por meio de diversos mecanismos. Alguns fármacos, como a penicilina, funcionam como hapteno, ligando-se aos componentes da membrana plaquetária e provocando uma resposta imune específica àquele. O anticorpo formado liga-se ao hapteno na superfície da plaqueta, levando à remoção da plaqueta revestida com o anticorpo da circulação.

Um segundo mecanismo da trombocitopenia imune é iniciado por uma mudança, causada pelo xenobiótico, em uma glicoproteína da membrana plaquetária. Isso provoca uma resposta do anticorpo, quando o anticorpo formado liga-se a esse antígeno plaquetário alterado na presença de fármacos, resultando na remoção das plaquetas da circulação pelo sistema mononuclear fagocitário.

A trombocitopenia é uma complicação não comum, mas séria, de inibidores dos fatores envolvidos na cascata de formação do trombo. Esses inibidores podem alterar a conformação desses fatores, causando a exposição de determinados peptídeos (denominados neoepítopos, considerando que eles foram expostos há pouco tempo ao sistema imune) nos fatores que reagem com anticorpos endógenos. Isso leva à fagocitose de plaquetas associadas com esses fatores. Assim, a exposição de epítopos que reagem com anticorpos que ocorrem naturalmente representa um terceiro mecanismo da destruição de plaquetas imunomediadas.

Trombocitopenias induzidas pela heparina (TIH) representam um quarto mecanismo da destruição de plaquetas imunomediadas. Quando a heparina (um anticoagulante) liga-se a

determinados fatores da coagulação, um neoepítopo é exposto, e uma resposta imune é produzida contra o neoepítopo. Isso resulta na agregação plaquetária em vez de na função normal da heparina em prevenir a formação de coágulos, o que pode representar um risco de trombose (pedaços de coágulo desprendendo-se e permanecendo na microvasculatura, prejudicando a circulação).

A púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) é uma síndrome caracterizada pelo início súbito de trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática e falência de múltiplos órgãos. A síndrome tende a acorrer após uma doença infecciosa, mas também pode se manifestar após a administração de alguns fármacos. A patogênese da PTT parece estar relacionada à capacidade de um fator de coagulação, denominado fator de von Willebrand (FvW), ativar plaquetas, mesmo na ausência de dano vascular significante. A PTT adquirida está associada com o desenvolvimento de um anticorpo que inibe a protease responsável pelo processamento de grandes multímeros do FvW em multímeros menores; os grandes multímeros persistem na circulação e, de maneira inadequada, ativam as plaquetas. A falência dos órgãos e a hemólise na PTT são resultado da formação de microtrombos ricos em plaquetas em toda a circulação. O desenvolvimento da PTT ou da PTT como síndrome tem sido associado com fármacos como ticlopidina, clopidogrel, cocaína, mitomicina e ciclosporina.

Efeitos tóxicos na função plaquetária A função plaquetária é dependente da interação coordenada de numerosas vias da resposta bioquímica. Os principais grupos de fármacos que afetam a função plaquetária incluem agentes anti-inflamatórios não esteroidais, antibióticos β-lactâmicos, medicamentos cardiovasculares, betabloqueadores específicos, fármacos psicotrópicos, anestésicos, anti-histamínicos e alguns agentes quimioterapêuticos.

Xenobióticos podem interferir na função plaquetária por meio de uma variedade de mecanismos. Alguns fármacos inibem a via fosfolipase A_2/ciclooxigenase e a síntese de tromboxano A_2 (p. ex., agentes anti-inflamatórios não esteroidais). Outros agentes parecem interferir na interação entre agonistas plaquetários e seus receptores (p. ex., antibióticos, ticlopidina e clopidogrel). Como a resposta plaquetária é dependente do rápido aumento do cálcio citoplasmático, alguns agentes que interferem na translocação do cálcio podem inibir a função plaquetária (p. ex., bloqueadores dos canais de cálcio). Às vezes, anticorpos induzidos por fármacos ligam-se a um receptor fundamental de plaquetas e inibem sua função.

Efeitos tóxicos na formação do coágulo de fibrina

Coagulação A formação do coágulo de fibrina resulta da ativação sequencial de uma série de serinas proteases que culminam com a formação de trombina. A trombina é uma enzima multifuncional que converte o fibrinogênio em fibrina; ativa fatores V, VIII, XI, XIII, proteína C e plaquetas; e interage com uma variedade de células (p. ex., leucócitos e células endoteliais), ativando as vias celulares sinalizadoras.

Síntese diminuída das proteínas da coagulação A maioria das proteínas envolvidas na cascata da coagulação é sintetizada no fígado. Portanto, qualquer agente que prejudique a função hepática pode causar um decréscimo na produção dos fatores da coagulação. Os testes comuns da cascata da coagulação, o tempo de protrombina (TP) e o tempo de tromboplastina parcial ativado (TTPa), podem ser utilizados como triagem para diagnóstico de disfunção hepática e de decréscimo dos fatores de coagulação.

TABELA 11.7 Condições associadas à síntese anormal de fatores de coagulação dependentes de vitamina K

Varfarina e análogos	α-tocoferol intravenoso
Rodenticidas (p. ex., brodifacum)	Deficiência alimentar
Antibióticos de amplo espectro	Resina colestiramina
Cefalosporinas *N*-metiltioletrazol	Síndromes de má absorção

Os fatores II, VII, IX e X são dependentes da vitamina K para sua síntese completa. Qualquer interferência na absorção da vitamina K no intestino ou redução do epóxido da vitamina K pode provocar deficiência desses fatores e tendência a sangramento (Tab. 11.7).

***Clearance* aumentado dos fatores de coagulação** Reações idiossincráticas a xenobióticos incluem a formação de anticorpos que reagem com as proteínas da coagulação, formando um imunocomplexo que é rapidamente liberado da circulação, resultando na deficiência desses fatores. Os fatores mais frequentemente afetados pelos xenobióticos estão listados na Tabela 11.8. Além de causarem *clearance* aumentado da circulação, esses anticorpos, muitas vezes, inibem a função do fator de coagulação. Outros anticorpos têm atividade catalítica, resultando em proteólise do fator de coagulação alvo.

Anticoagulantes lúpicos são anticorpos que podem potencializar mecanismos pró-coagulantes e interferir no sistema da proteína C, aumentando o risco de tromboses. O desenvolvimento de anticoagulantes lúpicos tem sido observado com clorpromazina, procainamida, hidralazina, quinidina, fenitoína e infecções virais.

Toxicologia de agentes utilizados para modular a hemostasia

Anticoagulantes orais Os anticoagulantes orais são prontamente absorvidos pelo sistema digestório e avidamente ligados à albumina na circulação. A janela terapêutica de anticoagulantes orais (varfarina) é relativamente estreita, e existem variações interindividuais consideráveis na resposta a determinada dose. Numerosos fatores, incluindo genética e medicações concorrentes, afetam a resposta individual. A consequência do efeito anticoagulante insuficiente é um risco aumentado de tromboembolismo, enquanto a da anticoagulação excessiva é um risco aumentado de sangramento. A terapia com esses agentes pode ser monitorada de forma rotineira com o TP, cujos resultados são expressos em termos de Razão Normalizada Internacional (INR).

Numerosos xenobióticos, incluindo alimentos, foram responsabilizados por afetar a resposta a anticoagulantes orais. Os mecanismos que interferem com anticoagulantes orais incluem indução ou inibição da biotransformação; interferência na absorção de varfarina do trato gastrintestinal; deslocamento da varfarina da albumina plasmática, com aumento temporário da biodisponibilidade do fármaco até que o equilíbrio seja reestabe-

TABELA 11.8 Correlação entre xenobióticos e o desenvolvimento de inibidores de fatores de coagulação específicos

Fator de coagulação	Xenobiótico
Trombina	Trombina bovina tópica Cola de fibrina
Fator V	Estreptomicina Penicilina Gentamicina Cefalosporinas Trombina bovina tópica
Fator VIII	Penicilina Ampicilina Cloranfenicol Fenitoína Metildopa Nitrofurazona Fenilbutazona
Fator XIII	Isoniazida Procainamida Penicilina Fenitoína Practolol
Fator de von Willebrand	Ciprofloxacina Hidroxietilamida Ácido valproico Griseofulvina Tetraciclina Agrotóxicos

lecido; diminuição da disponibilidade da vitamina K; e inibição da redução do epóxido da vitamina K, que potencializa o efeito dos anticoagulantes orais. Além disso, a administração de anticoagulantes orais pode afetar a atividade ou a meia-vida de outros medicamentos.

Anticoagulantes orais têm sido associados com necrose de pele induzida pela varfarina. O desenvolvimento de trombose microvascular na pele costuma ocorrer com mais frequência em pacientes com deficiência de proteínas C ou S.

A vitamina K também é necessária para a síntese de osteocalcina, um dos principais componentes dos ossos. A administração de varfarina por longos períodos foi associada a desmineralização dos ossos.

A administração de varfarina, particularmente durante as primeiras 12 semanas de gestação, é associada com anomalias congênitas em 25 a 30% das crianças expostas. Muitas das anomalias estão relacionadas a formação óssea anormal. Acredita-se que a varfarina pode interferir na síntese de proteínas adicionais fundamentais para o desenvolvimento estrutural normal.

Heparina A heparina é amplamente utilizada tanto na profilaxia como na terapia do tromboembolismo venoso agudo. A maior complicação associada com a terapia de heparina é o sangramento. O TTPa é comumente utilizado como monitor na terapia de heparina não fracionada. A administração do fármaco por longos períodos está associada com risco aumentado de osteoporose clinicamente significante. A administração de heparina também pode causar um aumento transitório das aminotranferases séricas.

Agentes fibrinolíticos Agentes fibrinolíticos dissolvem trombos patogênicos convertendo o plasminogênio, um zimogênio inativo, em plasmina, uma enzima proteolítica ativa. A plasmina é, em geral, controlada de forma rígida e não está espontaneamente livre na circulação. Entretanto, a administração regular de agentes fibrinolíticos resulta na geração de plasmina livre, o que provoca a fibri(noge)nólise, que é caracterizada por um prolongamento no TP, no TTPa e no tempo de trombina. Todos esses efeitos potencializam o risco de sangramento. Os inibidores de plaquetas e a heparina são comumente utilizados em conjunto com a terapia fibrinolítica para prevenir tromboses recorrentes.

A estreptoquinase é uma proteína derivada do estreptococo β-hemolítico do grupo C, sendo antigênica ao homem. A formação de anticorpos para a estreptoquinase, bem como a exposição à proteína, ocorrem normalmente em associação com a infecção estreptocócica. Reações alérgicas agudas podem se desenvolver em 1 a 5% dos pacientes expostos à estreptoquinase. Reações alérgicas também se desenvolvem com outros agentes fibrinolíticos contendo a proteína (p. ex., alteplase, um complexo plasminogênio-estreptoquinase anisoilado) ou peptídeos dela derivados.

Inibidores da fibrinólise Inibidores da fibrinólise são comumente utilizados para controlar sangramentos em pacientes com anormalidades congênitas da hemostase, como na doença de von Willebrand. O ácido tranexâmico e o ácido – aminocaproico são pequenas moléculas que bloqueiam a ligação de plasminogênio e plasmina à fibrina.

A aprotinina é um polipeptídeo inibidor natural das serinas proteases que é imunogênico quando administrado a seres humanos.

AVALIAÇÃO DE RISCO

A avaliação de risco que a exposição a novos produtos químicos representa para os seres humanos – em termos de efeitos tóxicos significantes na hematopoiese e na integridade funcional das células sanguíneas e nos mecanismos hemostáticos – é desafiante. Isso se deve, em parte, à complexidade da hematopoiese e à gama de tarefas importantes que esses elementos executam. A avaliação de risco inclui ensaios pré-clínicos em animais e triagens clínicas em seres humanos. Espera-se que nos ensaios pré-clínicos os animais de teste reajam da mesma forma que humanos na exposição a xenobióticos e que sejam examinados em detalhes para os sinais de toxicidade. Triagens clínicas subsequentes são conduzidas em humanos e mensuradas as miríades de parâmetros da toxicidade potencial para determinar a segurança relativa ou a toxicidade da substância de ensaio.

Os ensaios utilizados para avaliar o sangue ou a medula óssea em estudos da toxicologia pré-clínica devem fornecer informações sobre os efeitos de uma exposição de dose única ou de doses múltiplas nos parâmetros eritrocitários (contagem de eritrócitos, hemoglobina, VCP, VCM e CHCM), nos parâmetros leucocitários (contagem de leucócitos e contagem diferencial absoluta), nas contagens de plaquetas, nos testes de coagulação (TP e TTPa), na morfologia das células sanguíneas periféricas e nos exames citológicos e histológicos da medula óssea. Ensaios adicionais podem ser empregados de forma a orientar o problema

TABELA 11.9 Exemplos de ensaios direcionados a problemas utilizados para caracterizar observações hematológicas na toxicologia pré-clínica

Contagem de reticulócitos
Pesquisa de corpos de Heinz
Ensaio de anticorpos associados a células (eritrócitos, plaquetas, neutróflos)
Teste de fragilidade osmótica eritrocitária
Análises eritrocinética/ferrocinética
Coloração citoquímica/histoquímica
Microscopia eletrônica
Ensaios clonogênicos hematopoiéticos *in vitro*
Agregação plaquetária
Concentração do fibrinogênio plasmático
Ensaios dos fatores de coagulação
Tempo de trombina
Tempo de sangramento

como importante para melhor caracterizar o potencial hematotoxicológico. Exemplos desses ensaios estão listados na Tabela 11.9.

Os fatores de risco, relacionados a pacientes ou a populações, incluem variações farmacogenéticas no metabolismo de fármacos e a detoxificação que levam ao *clearance* reduzido do agente ou à produção de novos metabólitos intermediários, antígenos de histocompatibilidade, interações com fármacos ou outros agentes. E ainda, podem levar à sensibilidade aumentada a danos de precursores hematopoiético, doença preexistente da medula óssea e defeitos metabólicos que predispõem ao estresse oxidativo ou a outros associados com o agente.

Uma questão central no desenvolvimento de fármacos e de produtos químicos não terapêuticos é o *valor preditivo* dos dados toxicológicos pré-clínicos e um expansivo, mas inevitavelmente limitado, banco de dados para a ocorrência de hematotoxicidade significativa na ampla exposição de populações humanas.

REFERÊNCIAS

Evans GO: *Animal Hematotoxicology: A Practical Guide for Toxicologists and Biomedical Researchers*. Boca Raton:CRC Press, 2008.

Hillman R, Ault KA, Rinder HM: *Hematology in Clinical Practice: A Guide o Diagnosis and Management*, 4th ed. New York: McGraw-Hill, 2005.

Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT (eds): *Williams Hematology*, 7th ed. New York: McGraw-Hill, 2006.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes afirmativas é FALSA em relação à anemia verdadeira?
   a. Alterações no volume corpuscular médio são características da anemia.
   b. A destruição aumentada de eritrócitos pode provocar anemia.
   c. A produção diminuída de eritrócitos não é uma causa comum de anemia porque a medula óssea mantém continuamente renovado o *pool* eritrocitário.
   d. Os reticulócitos podem sobreviver por longos períodos de tempo no sangue periférico quando o indivíduo está anêmico.
   e. Os principais parâmetros no diagnóstico da anemia são a contagem de glóbulos vermelhos, a concentração da hemoglobina e o hematócrito.

2. Qual dos seguintes tipos de anemia é apropriadamente associado com sua causa?
   a. Anemia por deficiência de ferro – perda sanguínea
   b. Anemia sideroblástica – deficiência de vitamina B_{12}
   c. Anemia megaloblástica – suplementação de folato
   d. Anemia aplástica – etanol
   e. Anemia megaloblástica – intoxicação por chumbo

3. A incapacidade para sintetizar o anel porfirínico da hemoglobina resultará provavelmente em qual das seguintes opções?
   a. Anemia por deficiência de ferro
   b. Mitoses impróprias dos eritrócitos
   c. Incapacidade para sintetizar timidina
   d. Acúmulo de ferro nos eritroblastos
   e. Hipoplasia da medula óssea

4. Qual das seguintes opções causará um deslocamento para a direita na curva de dissociação do oxigênio?
   a. Aumento do pH
   b. Decréscimo da concentração de dióxido de carbono
   c. Decréscimo da temperatura corpórea
   d. Aumento da concentração de 2,3-BPG
   e. Hemoglobina fetal

5. Todas as afirmações a seguir sobre os eritrócitos são verdadeiras, EXCETO:
   a. Os eritrócitos velhos são removidos pelo fígado, no qual o ferro é reciclado.
   b. Os eritrócitos têm vida média de 120 dias.
   c. As células sanguíneas vermelhas geralmente perdem seu núcleo antes de entrarem na circulação.
   d. Os reticulócitos são eritrócitos imaturos que ainda têm uma pequena quantidade de RNA.
   e. Indivíduos com anemia apresentam uma relação reticulócitos:eritrócitos maior do que o normal.

6. Todas as afirmações a seguir sobre a hemólise oxidativa são verdadeiras, EXCETO:
   a. Espécies reativas do oxigênio são comumente geradas pelo metabolismo dos eritrócitos.
   b. Superóxido dismutase e catalase são enzimas que protegem contra danos oxidativos.
   c. A glutationa reduzida (GSH) aumenta a probabilidade de lesões oxidativas nos eritrócitos.
   d. A deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase é comumente associada com hemólises oxidativas.
   e. Xenobióticos podem determinar danos oxidativos nos eritrócitos por superarem os mecanismos de proteção da célula.

7. Qual dos seguintes conjuntos de leucócitos pode apropriadamente caracterizar os granulócitos por causa da aparência dos grânulos citoplasmáticos no esfregaço de sangue?
   a. Neutrófilos, basófilos e monócitos
   b. Basófilos, eosinófilos e linfócitos
   c. Eosinófilos, neutrófilos e linfócitos
   d. Basófilos, eosinófilos e neutrófilos
   e. Linfócitos, neutrófilos e basófilos

8. Todas as afirmações a seguir são verdadeiras, EXCETO:
   a. Xenobióticos podem diminuir bastante a proliferação de neutrófilos e monócitos, aumentando o risco de infecções.
   b. Etanol e cortisol diminuem a fagocitose e a ingestão de micróbios pelo sistema imune.
   c. A agranulocitose é previsível e pode ser determinada pela exposição a numerosos toxicantes ambientais.
   d. Usuários de heroína e de metadona apresentam capacidade reduzida de destruir microrganismos devido à redução de superóxido dismutase induzida por drogas.
   e. A neutropenia tóxica pode ser mediada pelo sistema imune.

9. Leucemias:
   a. São, muitas vezes, devidas a anormalidades citogenéticas, particularmente quebra ou perda dos cromossomos 8 e 11.
   b. Raramente são causadas por agentes utilizados na quimioterapia do câncer.
   c. Têm origem nas células sanguíneas circulantes.
   d. São caracterizadas como agudas se seus efeitos são severos e de curta duração.
   e. Têm sido associadas com a exposição à radiação de raios X.

10. Em relação a plaquetas e trombocitopenias, qual das seguintes afirmações é FALSA?
   a. Plaquetas podem ser removidas da circulação por meio de uma via mediada por hapteno induzida por fármacos ou produtos químicos.
   b. O cortisol diminui a atividade plaquetária pela inibição da síntese da prostaglandina tromboxano.
   c. Toxicantes podem induzir uma alteração na glicoproteína da membrana plaquetária, permitindo o reconhecimento e a remoção das plaquetas por fagocitoses.
   d. A administração de heparina pode resultar na agregação plaquetária e causar trombocitopenia.
   e. A púrpura trombocitopênica trombótica é mais comumente causada por doenças infecciosas, mas também pode estar associada com a administração de agentes farmacológicos.

CAPÍTULO

12

Imunotoxicologia

Norbert E. Kaminski, Barbara L. Faubert Kaplan
e Michael P. Holsapple

O SISTEMA IMUNE

Reconhecimento de antígenos
- Imunidade
- Antígeno

Imunidade inata
- Componentes celulares: NK, NKT, PMN e macrófagos
- Fatores solúveis: proteínas de fase aguda e complemento

Imunidade adquirida (adaptativa)
- Componentes celulares: APCs, células T e B
- Imunidade humoral e celular

Desenvolvimento imunológico

Neuroendocrinoimunologia

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE IMUNOLÓGICA

Métodos de avaliação da imunocompetência
- Avaliação geral
- Avaliação funcional
- Abordagem molecular na imunotoxicologia
- Abordagem dos mecanismos na imunotoxicologia
- Abordagem regulatória para avaliação da imunotoxicidade

Modelos animais em imunotoxicologia

Análise de mecanismos de ação

IMUNOMODULAÇÃO POR XENOBIÓTICOS

Imunossupressão
- Fumantes (tabaco)
- Proteínas derivadas de DNA recombinante
- Radiação ultravioleta

HIPERSENSIBILIDADE INDUZIDA POR XENOBIÓTICOS E AUTOIMUNIDADE

Hipersensibilidade
- Classificação das reações de hipersensibilidade
- Avaliação das reações de hipersensibilidade
- Reações de hipersensibilidade causadas por xenobióticos

Autoimunidade
- Mecanismos de autoimunidade
- Reações autoimunes causadas por xenobióticos
- Síndrome de sensibilidade a múltiplas substâncias químicas

NOVAS PERSPECTIVAS E DESAFIOS NA IMUNOTOXICOLOGIA

PONTOS-CHAVE

- A imunidade corresponde a uma série de mecanismos fisiológicos multicelulares delicadamente balanceados e complexos que permitem que um indivíduo possa distinguir moléculas "estranhas" de moléculas "próprias" (*self*) e, assim, neutralizar e/ou eliminar o "estranho".
- A imunidade inata, que elimina a maioria dos potenciais patógenos antes que infecções significantes ocorram, inclui barreiras físicas e bioquímicas, ambas interna ou externamente ao corpo, bem como células imunes designadas para respostas específicas.
- A imunidade adquirida envolve a produção de resposta imune específica para cada agente infeccioso (*especificidade*) e memoriza tal agente, de modo que uma resposta mais rápida e efetiva estará disponível em um futuro contato com o mesmo agente (*memória*).
- A autoimunidade ocorre quando as reações do sistema imune são dirigidas contra tecidos do próprio organismo, resultando em lesões teciduais e doença.
- Reações de hipersensibilidade requerem exposição prévia que sensibilize o organismo e, assim, instigue uma reação em subsequente contato.
- Xenobióticos que alteram o sistema imune podem perturbar o balanço entre o reconhecimento imune e a destruição de invasores estranhos e permitir a proliferação desses invasores e/ou de células cancerosas.

A imunidade é um processo homeostático, uma série de mecanismos fisiológicos multicelulares delicadamente balanceados e complexos que permitem que um indivíduo possa distinguir moléculas "estranhas" de moléculas "próprias" (*self*) e, assim, neutralizar e/ou eliminar o "estranho". A imunocompetência diminuída (imunossupressão) pode resultar em infecções repetidas, mais graves ou prolongadas, bem como no desenvolvimento de câncer. A imunidade exacerbada pode levar a doenças imunomediadas, tais como hipersensibilidade, ou, se algum tecido íntegro corpóreo não é identificado como *self*, uma doença autoimune pode se estabelecer.

O SISTEMA IMUNE

O sistema imune compreende numerosos órgãos linfoides e numerosas populações celulares diferentes com variadas funções. A medula óssea e o timo são referidos como órgãos linfoides primários e sustentam a produção de linfócitos T e B maduros e células mieloides, tais como macrófagos e polimorfonucleares (PMN).

Dentro da medula óssea, as células do sistema imune desenvolvem-se comprometidas ou com a linhagem linfoide ou com a linhagem mieloide. As células da linhagem linfoide diferenciam-se posteriormente em células (linfócitos) T ou B. Os precursores de células T são programados para deixar a medula óssea e migrar para o timo, onde, em seguida, ocorre a diferenciação.

Linfócitos maduros "naïve", ou "virgens" (são aquelas células T e B que nunca passaram por estimulação antigênica), entram primeiramente em contato com antígenos exógenos no interior do baço ou de linfonodos, conhecidos como órgãos linfoides secundários.

Tecidos linfoides associados com a pele e a mucosa do intestino, com o trato respiratório e o geniturinário podem ser classificados como tecidos linfoides terciários. São, basicamente, locais efetores nos quais células efetoras de memória exercem as funções imunológicas e imunorregulatórias.

Reconhecimento de antígenos

Imunidade A imunidade inata é uma resposta de defesa imediata, inespecífica e não associada com a memória imunológica. A resposta imune inata para um organismo estranho nas exposições secundárias e subsequentes é a mesma que ocorre na exposição primária. A imunidade adquirida é caracterizada por especificidade (para o antígeno) e memória, resultando em uma resposta mais intensa e melhor em um desafio secundário.

Antígeno Moléculas estranhas (*nonself*), incluindo DNA, RNA, proteínas, carboidratos e mesmo proteínas *self* alteradas, que possam ser reconhecidas pelo sistema imune, são chamadas de antígeno. Os antígenos são geralmente processados para apresentação às células do sistema imune e, assim, induzir resposta imunológica.

Cada antígeno é reconhecido por anticorpos específicos produzidos por células B. Há muitos genes para cadeia leve e pesada que codificam para a produção de proteínas denominadas anticorpos. Esses genes quando rearranjados em diversas combinações, contribuem para a imensa diversidade genética envolvida na produção de anticorpos.

Imunidade inata

A imunidade inata atua como a primeira linha de defesa contra agentes infecciosos, eliminando a maioria dos patógenos potenciais antes que uma infecção significativa ocorra. Essa imunidade inata inclui barreiras físicas e bioquímicas, ambas internas e externas ao organismo, bem como células designadas para respostas inespecíficas. Não há memória imunológica associada com imunidade inata.

A maioria dos agentes infecciosos entra no organismo pelo sistema respiratório, pelo intestino e pelo trato geniturinário, enquanto a pele funciona como uma barreira efetiva. A defesa inata inclui muco secretado pela nasofaringe, presença de lisozima na maioria das secreções, cílios da traqueia e brônquios. Também reflexos como tosse, espirro e elevação da temperatura corporal

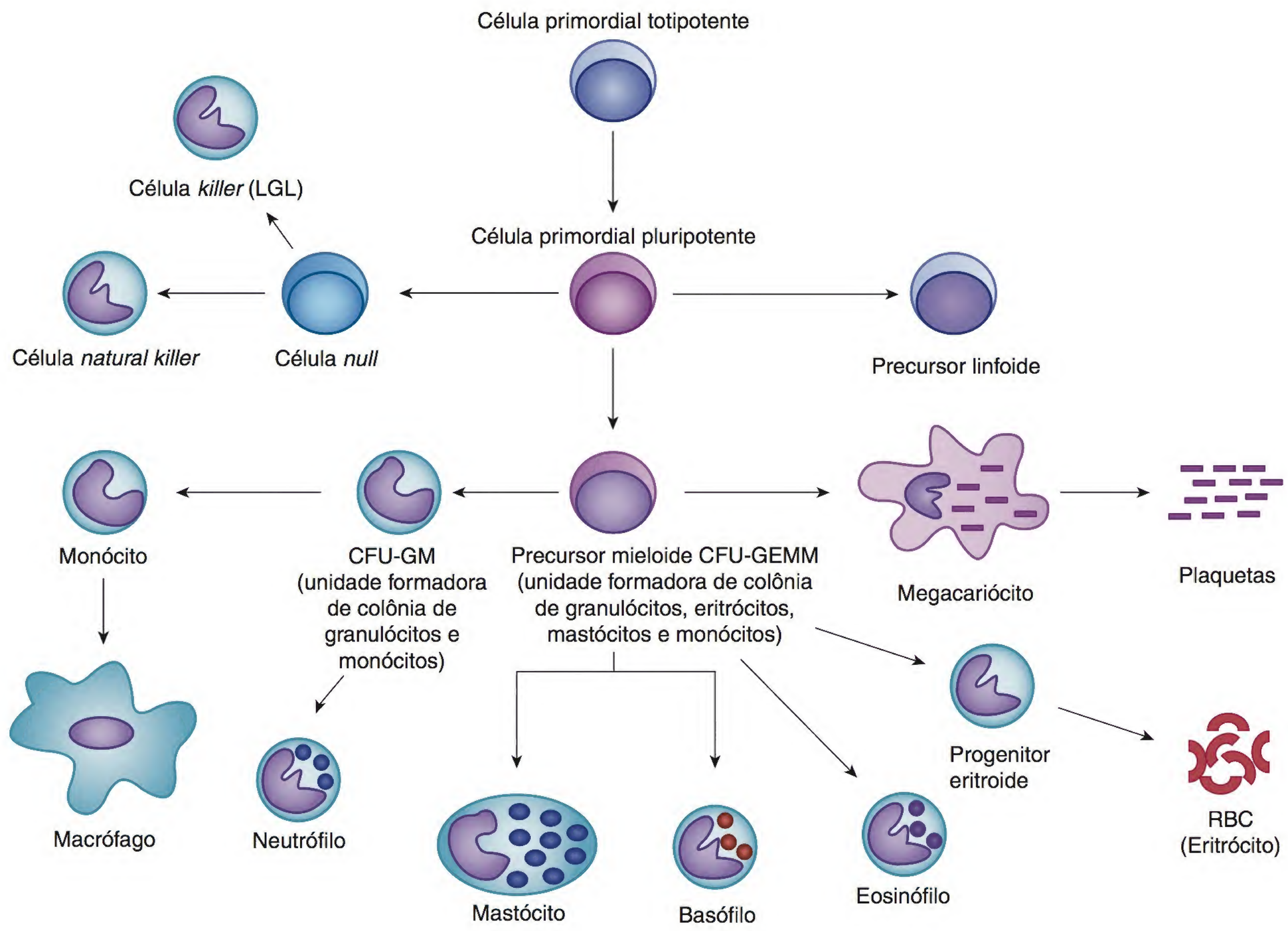


FIGURA 12.1 Desenvolvimento dos componentes celulares do sistema imune.

fazem parte da imunidade inata. Patógenos que entram no corpo pelo sistema digestório entram em contato com alterações intensas de pH no estômago e com variada flora microbiana intestinal.

Componentes celulares: NK, NKT, PMN e macrófagos Dois tipos celulares estão envolvidos na resistência não específica (inata) do hospedeiro: células *natural killer* (NK) e fagócitos profissionais. As células NK podem reconhecer células infectadas por vírus ou com alterações malignas na superfície, bem como células-alvo recobertas com anticorpos. Este último reconhecimento é utilizado na imunidade mediada por células (CMI). Usando receptores de superfície, as células NK ligam-se, expelem grânulos citolíticos e induzem apoptose da célula-alvo.

Células NKT (células T NK) expressam marcadores de superfície característicos de ambas as células, NK e T, e desempenham papel importante na imunidade inata. Sua ativação é precoce, e não apresentam memória imunológica. Essas células também produzem citocinas e medeiam a citólise de células-alvo.

Os fagócitos incluem PMN (polimorfonucleares neutrófilos) e monócitos/macrófagos, que se desenvolvem de células-tronco pluripotentes comprometidas com a linhagem mieloide (Fig. 12.1). Os PMNs são excelentes células fagocíticas; induzem resposta inflamatória e podem eliminar a maioria dos microrganismos.

Os macrófagos são monócitos diferenciados. Ao saírem da medula óssea, os monócitos distribuem-se pelos vários tecidos, nos quais se diferenciam em macrófagos. Nos diferentes tecidos, os macrófagos têm propriedades distintas, com extensa variabilidade de receptores de superfície, metabolismo oxidativo e expressão das moléculas classe II do MHC (*major histocompatibility complex* = principal complexo de histocompatibilidade), que apresentam peptídeos antigênicos.

Caso os PMNs sejam incapazes de conter a infecção, os macrófagos são recrutados para o local invadido pelos agentes agressores. Os macrófagos apresentam função fagocítica e microbicida e também atuam como células apresentadoras de antígenos (APC = *antigen-presenting cells*). São recrutados para os sítios da inflamação por fatores quimiotáticos, podem ser ativados por citocinas para aumentar seu poder citotóxico e podem produzir citocinas. Assim, os macrófagos também têm papel importante como "limpadores" na movimentação diária de tecidos senescentes, tais como núcleos de eritrócitos em maturação, PMNs e plasmócitos.

Fatores solúveis: proteínas de fase aguda e complemento Componentes solúveis da imunidade inata (Tab. 12.1) são as proteínas de fase aguda e do sistema complemento. Na infecção, os macrófagos são ativados e secretam várias citocinas, que são carregadas pela corrente sanguínea para locais distantes. Essa resposta global para agentes estranhos é chamada de *resposta de fase aguda*, e consiste em febre e alterações nos tipos de proteínas séricas sintetizadas pelos hepatócitos. Essas proteínas podem se ligar às bactérias pelo processo de opsonização e facilitar a ligação de complemento e subsequente facilitação da captura da bactéria pelo macrófago.

TABELA 12.1 Imunidade inata *versus* imunidade adquirida

Característica	Imunidade inata	Imunidade adquirida
Células envolvidas	Neutrófilos (PMN) Monócitos/ Macrófagos Células NK/NKT	Linfócitos T Linfócitos B Macrófagos
Mediadores solúveis primários	Complemento Perforina/Granzima Proteínas de fase aguda Interferon-α/β Outras citocinas	Anticorpos Citocinas Perforina/Granzima
Especificidade da resposta	Limitada aos receptores ligantes de antígenos (TLR, Fc, receptores de complemento)	Sim (elevada especificidade)
Resposta melhorada por repetidos desafios com o antígeno	Não	Sim

O sistema complemento consiste em cerca de 30 proteínas com função primordial de destruição de membranas de agentes infecciosos e de promoção de resposta inflamatória. A ativação do complemento ocorre em cascata, cada componente sequencialmente, e alguns deles se ligam à membrana-alvo, rompendo sua integridade sem afetar células vizinhas. Os componentes finais do complemento que podem entrar na membrana e romper sua integridade são chamados de *complexo de ataque à membrana* (MAC). O material ligado ao complemento é alvo de eliminação pela interação com receptores de complemento na superfície de células imunes circulantes.

Imunidade adquirida (adaptativa)

Se as defesas primárias (imunidade inata) contra infecção são insuficientes, a divisão adaptativa do sistema imune é ativada e produz uma resposta imune "específica" para cada agente infeccioso. Esse ramo da imunidade pode proteger o hospedeiro de futuras agressões pelo mesmo agente. Assim, duas características-chave que distinguem a imunidade adquirida são especificidade e memória. Isso significa que em um adulto normal saudável, a rapidez e a magnitude da resposta imune para organismos estranhos são maiores na resposta secundária do que no desafio primário (Tab. 12.1).

No desenvolvimento da especificidade imunológica, é essencial o reconhecimento do antígeno e a geração de anticorpos que possam se ligar a ele. Um antígeno é definido essencialmente como uma substância (estranha) que pode desencadear a produção de anticorpos específicos (imunogenicidade) e ligar-se de forma específica a esses anticorpos (antigenicidade). Pequenas moléculas, chamadas de *haptenos*, devem ser conjugadas previamente a moléculas/células carreadoras para que possam induzir uma resposta imune.

TABELA 12.2 Propriedades das diferentes classes e subclasses das imunoglobulinas

Classe	Concentração média sérica (mg/mL)	Meia-vida (dias)	Propriedades biológicas
IgG			Fixação do complemento (IgG_3,IgG_1) Atravessa a placenta Anticorpo citotrópico
Subclasses			
IgG_1	9	21	
IgG_2	3	20	
IgG_3	1	7	
IgG_4	1	21	
IgA	3	6	Anticorpo secretor
IgM	1,5	10	Fixação do complemento Excelente aglutinina
IgD	0,03	3	Possível papel na diferenciação de linfócitos B antígeno--desencadeada
IgE	0,0001	2	Respostas alérgicas (degranulação de mastócitos)

Anticorpos, proteínas classificadas como imunoglobulinas (Igs), são produzidos por linfócitos B diferenciados (plasmócitos) e também são definidos funcionalmente pelo antígeno com o qual interagem (p. ex., IgM anti-hemácias de carneiro). Há cinco tipos de Ig relacionados estruturalmente (Tab. 12.2): IgM, IgG (e subtipos), IgE, IgD e IgA. Todas as Igs são constituídas de cadeias pesadas (H – *heavy*) e leves (L – *light*) e de regiões, uma constante (Fc) e duas variáveis (Fab). São as regiões variáveis que interagem com o antígeno (Fab – *antigen binding*), enquanto a região Fc apresenta funções efetoras, tais como fixação do complemento e ligação a receptores de Fc em fagócitos. Anticorpos também podem se ligar a células estranhas e auxiliar a opsonização, iniciar a cascata do complemento e levar à lise da célula-alvo, ligar-se a partículas virais, ligar-se a antígenos em células-alvo e auxiliar células NK e linfócitos T citotóxicos (CTL) a destruí-las.

Durante a resposta imune, as células do sistema imune comunicam-se por uma vasta rede de mediadores solúveis, as citocinas. Praticamente todas as células imunes secretam citocinas, que podem ter efeito local ou sistêmico. A Tabela 12.3 mostra um resumo das fontes e funções de algumas citocinas.

TABELA 12.3 Citocinas: fontes e funções na imunorregulação

Citocina	Fonte	Ações fisiológicas
IL-1	Macrófagos Células B Várias células não imunes	Ativação e proliferação de células T ($Th_2 > Th_1$) Pró-inflamatória Induz febre e proteínas de fase aguda Induz síntese de IL-8 e TNF-α
IL-2	Células T	Fator primário de crescimento de célula T Fator de crescimento para células B e NK Aumenta a produção de linfocinas
IL-3	Células T Mastócitos	Estimula a proliferação e diferenciação de células estromais, progenitores de macrófagos, granulócitos e linhagem eritroide
IL-4	Células T Mastócitos Células estromais Basófilos $CD4^+/NK1.1^+$	Proliferação de células T ativadas ($Th_2 > Th_1$) e células B A diferenciação de células B e a troca (*switching*) de isótipos pode inibir algumas funções de macrófagos Antagoniza IFN-γ Inibe a produção de IL-8
IL-5	Células T Mastócitos	Proliferação e diferenciação de eosinófilos Promove *switching* de isótipos de células B Sinergismo com IL-4 para induzir secreção de IgE
IL-6	Macrófagos Células T e B ativadas Fibroblastos Queratinócitos Células endoteliais Hepatócitos	Aumenta a diferenciação de células B e a secreção de Ig Induz a produção de proteínas de fase aguda pelo fígado Pró-inflamatória Proliferação de células T e aumento de expressão de receptores de IL-2 Sinergismo com IL-4 para induzir secreção de IgE
IL-7	Células estromais Células epiteliais	Proliferação de timócitos ($CD4^-/CD8^-$) Proliferação de células pró e pré-B (camundongos) Crescimento de células T
IL-8	Macrófagos Plaquetas Fibroblastos Células NK Queratinócitos Hepatócitos Células endoteliais	Ativação e quimiotaxia para monócitos, neutrófilos, basófilos e células T Pró-inflamatória
IL-9	Células Th	Fator de crescimento para células T (primariamente CD^{4+}) Aumenta a atividade de mastócito Estimula o crescimento de progenitores precoces eritroides
IL-10	Células T, Macrófagos Células B	Inibe a atividade citolítica de macrófago e a ativação de macrófago por célula T Inibidor geral de síntese de citocinas por células Th1 (na presença de APCs) Aumenta a atividade citolítica de células $CD8^+$ Aumenta a proliferação de células B ativadas Crescimento de mastócitos Anti-inflamatória Inibe choque por endotoxinas
Interferon-α/β (IFN-α/β) (IFN tipo 1)	Leucócitos Células epiteliais Fibroblastos	Induz a expressão de moléculas MHC classe I Atividade antiviral Estimula células NK
Interferon-γ (IFN-γ)	Células T Células NK Células epiteliais Fibroblastos	Induz expressão de moléculas MHC classe I e II Ativa macrófagos (como APC e célula citotóxica) Melhora o reconhecimento de células infectadas por vírus por CTLs

(*continua*)

TABELA 12.3 Citocinas: fontes e funções na imunorregulação (*Continuação*)

Citocina	Fonte	Ações fisiológicas
Fator necrosante de tumor (TNF-α) e linfotoxina (TNF-β)	Macrófagos Linfócitos Mastócitos	Induz citocinas inflamatórias Aumenta a permeabilidade vascular Ativa macrófagos e neutrófilos Necrose de tumor (ação direta) Mediador primário do choque séptico Interfere com metabolismo de lipídeos (caquexia) Induz proteínas de fase aguda
Fator de transformação de crescimento-β (TGF-β)	Macrófagos Megacariócitos Condrócitos	Aumenta quimiotaxia de monócitos/macrófagos Aumenta cicatrização: angiogênese, proliferação de fibroblastos, depósito de matriz extracelular Inibe proliferação de células T e B Inibe síntese de citocinas por macrófago Inibe secreção de anticorpos Indutor primário de *switch* para IgA
GM-CSF	Células T Macrófagos Células endoteliais Fibroblastos	Estimula crescimento e diferenciação de monócitos e granulócitos
Fator inibitório de migração (MIF)	Células T Células da glândula hipofisária anterior Monócitos	Inibe migração de macrófagos Pró-inflamatória (induz produção de TNF-α por macrófagos) Parece ter papel na resposta de hipersensibilidade tardia Provável contrarregulador da atividade glicocorticoide

Componentes celulares: APCs, células T e B Para estimular a resposta imune contra um antígeno em particular, esse antígeno deve ser capturado e processado por células assessoras, chamadas APCs, que apresentam o peptídeo antigênico processado para os linfócitos. Os macrófagos têm papel importante como APC na imunidade adquirida. E, embora tenham maior habilidade na produção de Ig, as células B também podem servir como APCs.

As APCs e os linfócitos interagem durante a resposta imune. As APCs capturam o antígeno, processam-no até fragmentos (peptídeos) e, então, apresentam esses fragmentos associados a moléculas do MHC classe II na superfície (membrana celular).

Os linfócitos B, além de servirem como APCs, são também células efetoras da imunidade humoral, produzindo os isótipos de Igs com variadas especificidades e afinidades. As células B maduras são ativadas pela ligação do antígeno às Igs de superfície (BCR = receptor de antígeno de células B) e, em seguida, proliferam e sofrem diferenciação, tornando-se células de memória ou células formadoras de anticorpos (plasmócitos), que secretam ativamente os anticorpos antígeno-específicos.

As células T sofrem um complexo processo de maturação, no qual sobrevivem somente células que não reconhecem moléculas próprias (*self*) e que se ligam ao MHC de classe II, sendo capazes de reconhecer antígenos. Essas células se tornam linfócitos T-helper (linfócitos T auxiliadores, que expressam na superfície celular moléculas CD4+ e facilitam a resposta de linfócitos B) ou linfócitos T-citotóxicos (que expressam na superfície celular moléculas CD8+ e fazem mediação de citotoxicidade celular).

Imunidade humoral e celular A ativação de células T antígeno-específicas inicia-se com a interação do receptor de antígeno na célula T (TCR) com o peptídeo associado ao MHC classe II na APC. Essa interação e a presença de IL-1 secretada pelas APCs induzem a célula T a produzir fator de crescimento para célula T e IL-2, bem como receptores para essas moléculas. As células T em proliferação secretam numerosas linfocinas/citocinas (Tab. 12.3), que influenciam muitos aspectos da resposta imune. O próximo passo na geração da resposta imune humoral é a interação das células T ativadas com as células B, diretamente entre T e B (antígeno-específico) ou indiretamente por linfocinas que induzem proliferação e diferenciação de células B em plasmócitos ou células de memória. Um diagrama geral das interações celulares envolvendo a resposta humoral é apresentado na Figura 12.2. A produção de IgM antígeno-específica requer de 3 a 5 dias após a exposição primária (inicial) ao antígeno (Fig. 12.3). No desafio secundário, as células B de memória produzem IgG, que é de maior afinidade. Também uma maior concentração de anticorpos está associada com a resposta secundária.

Há dois mecanismos gerais de imunidade mediada por células (CMI), chamados de hipersensibilidade tipo tardio (HTT) e citotoxicidade mediada por células. A HTT é apresentada mais adiante neste capítulo. Na citotoxicidade mediada por células, as células efetoras (CTL ou NK) ligam-se especificamente ao antígeno na célula-alvo (Fig. 12.4) e liberam o conteúdo de seus grânulos citolíticos no interior desta, induzindo a apoptose (morte celular programada).

Desenvolvimento imunológico

Para o estudo do desenvolvimento imunotoxicológico, é necessária a investigação dos efeitos que os xenobióticos causam na ontogenia do sistema imune, incluindo os períodos de exposição pré-natal (intrauterino), perinatal (< 36 horas de vida) e neonatal. O desenvolvimento imunológico humano e de outras espécies pode ser alterado após a exposição perinatal a produtos químicos imunotóxicos. Também tem sido sugerido que esses efeitos podem ser mais drásticos ou persistentes do que aqueles após exposição na vida adulta.

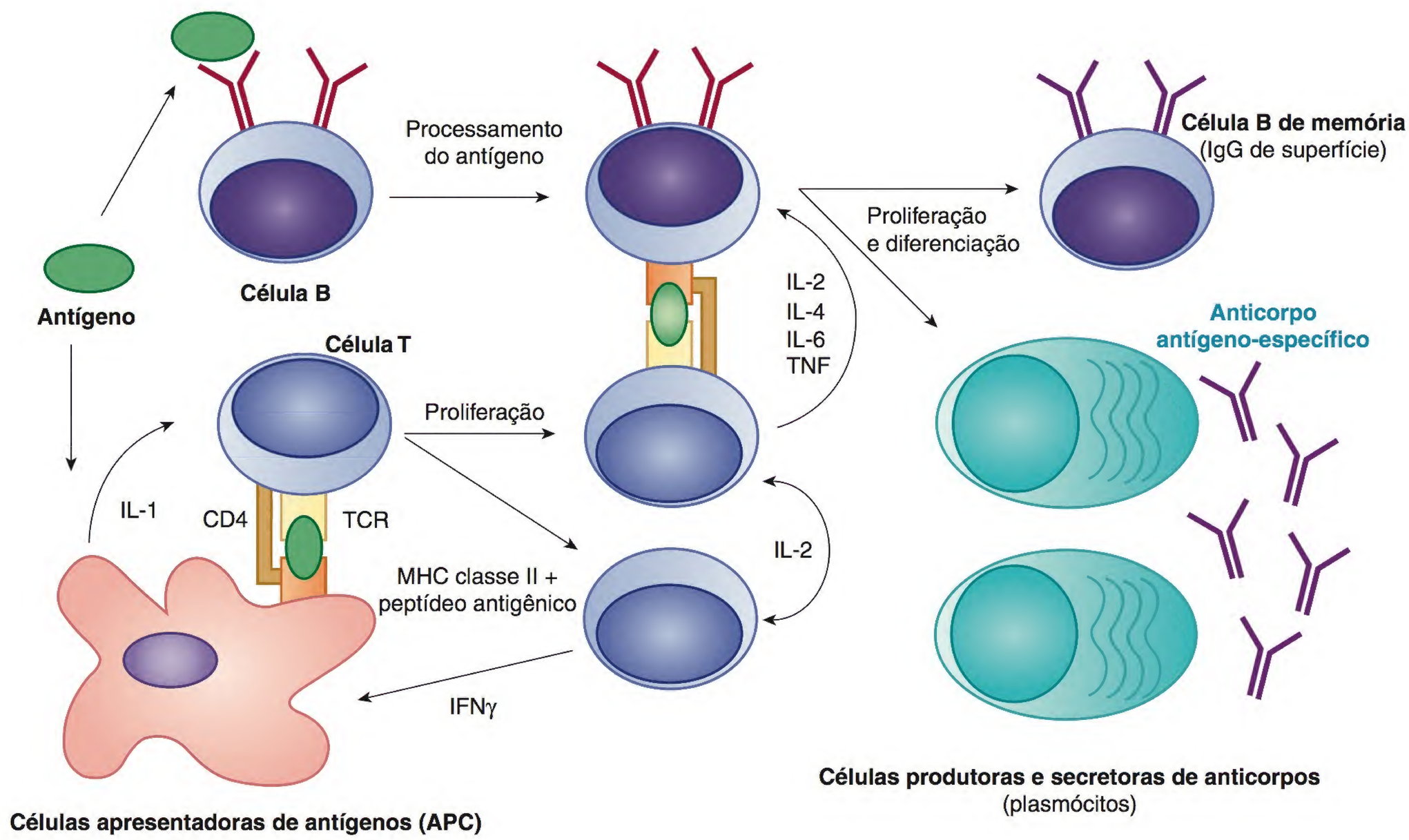


FIGURA 12.2 Interações celulares na resposta de anticorpos.

O sistema imune desenvolve-se inicialmente da população de células-tronco hematopoiéticas pluripotentes, que são geradas no início da gestação a partir de células-tronco mesenquimais não comprometidas. Essa população celular inicial dá origem a todas as linhagens de células sanguíneas circulantes. Células imunocompetentes são produzidas na medula óssea e no timo e, pela corrente sanguínea, irão povoar os tecidos/órgãos linfoides secundários: baço, linfonodos e tecido linfoide associado à mucosa.

Como a função do timo diminui com o passar do tempo, o *pool* de células T e B de memória é que manterá a imunocompetência do indivíduo.

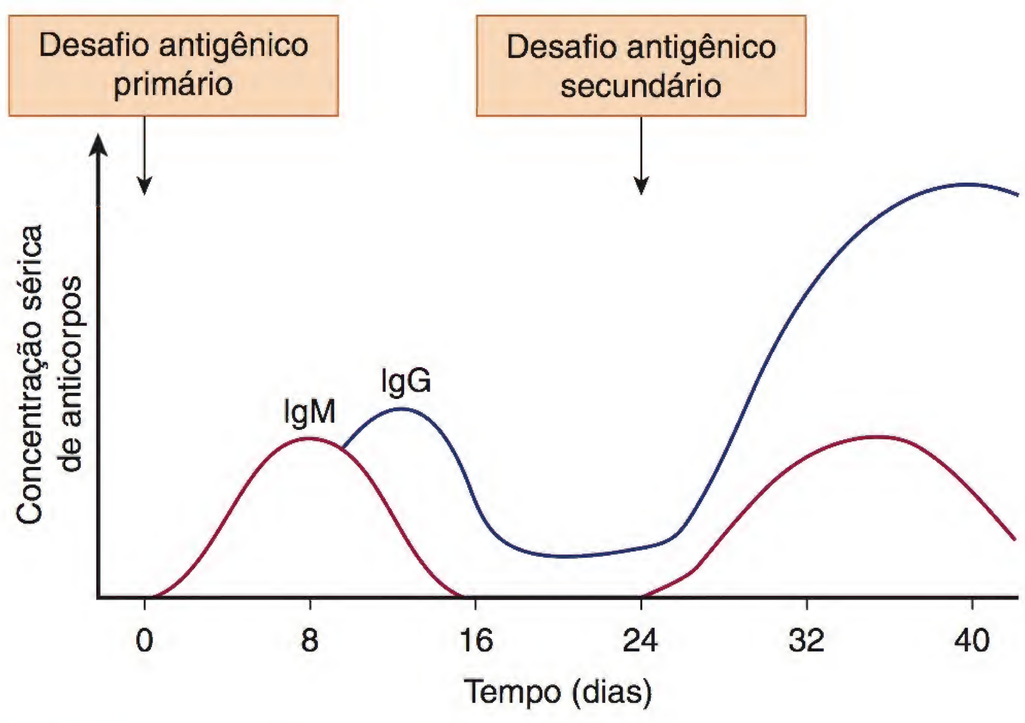


FIGURA 12.3 Cinética da resposta de anticorpos.

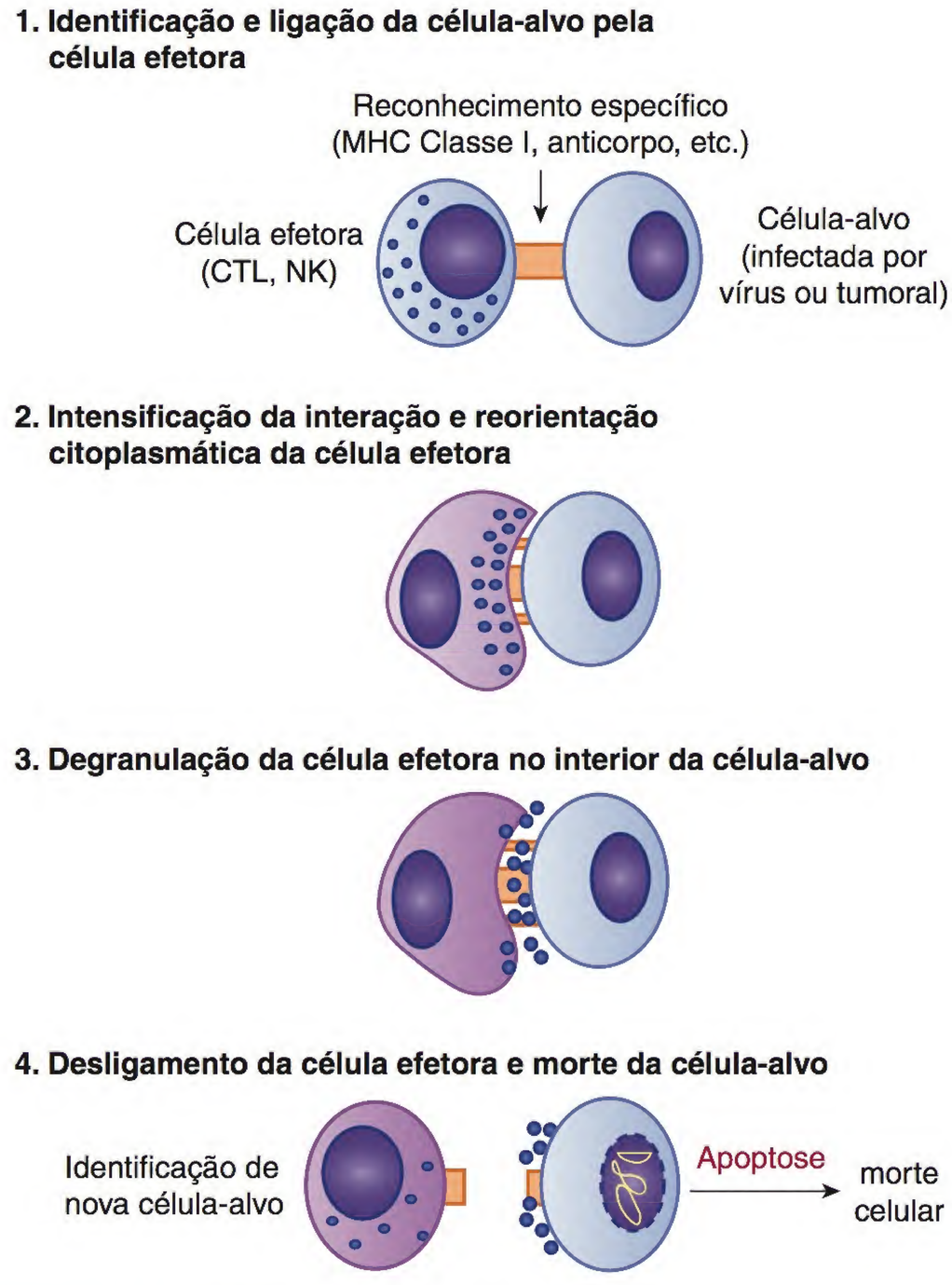


FIGURA 12.4 Citotoxicidade mediada por células.

Neuroendocrinoimunologia

Citocinas, neuropeptídeos, neurotransmissores e hormônios são uma parte integral e inter-regulada do sistema nervoso central, do sistema endócrino e do sistema imune. Cada um desses sistema da tríade tem influência um sobre o outro de modo bidirecional.

AVALIAÇÃO DA INTEGRIDADE IMUNOLÓGICA

Xenobióticos podem ter efeitos significativos sobre o sistema imune. As células imunes podem ser removidas do organismo e são funcionais por algum tempo *in vitro*. Desse modo, o toxicologista tem a oportunidade de avaliar e compreender as ações dos xenobióticos no sistema imune.

Vários dispositivos médicos podem ter contato íntimo e prolongado com o corpo. Possíveis consequências imunológicas desse contato podem ser imunossupressão, imunoestimulação, inflamação e sensibilização.

Métodos de avaliação da imunocompetência

Avaliação geral Todos os estudos de imunocompetência deveriam incluir estudos toxicológicos (tais como peso dos órgãos, características séricas, parâmetros hematológicos e função de medula óssea) para investigar a modulação imune em outros tecidos/órgãos do corpo. A histopatologia de órgãos linfoides também pode prover informações sugestivas de substâncias potencialmente imunotoxicantes. Além disso, o uso de anticorpos monoclonais, direcionados para marcadores de superfície celular, conjugados com fluorocromos (fluorescentes) em citômetro de fluxo, permite a identificação e a quantificação de subtipos de linfócitos e, assim, avaliar efeitos dos xenobióticos na maturação celular.

Avaliação funcional

Imunidade inata A imunidade inata compreende aquelas respostas imunológicas que não requerem exposição prévia a um antígeno, e é inespecífica por natureza. Essas respostas inatas incluem reconhecimento de células tumorais por células NK, fagocitose de patógenos por macrófagos e a atividade lítica do sistema complemento.

Para avaliar a atividade fagocítica, macrófagos são cultivados em microplacas de cultura celular com eritrócitos radiomarcadas. As células que não se ligam aos macrófagos, bem como as células que se ligam, mas não são fagocitadas pelos macrófagos, são removidas. Os macrófagos são, então, lisados para determinar a quantidade de células que foram fagocitadas. Esse teste fornece informações acerca da capacidade de ligação e de fagocitose pelos macrófagos e também pode ser realizado *in vivo* pela medida de incorporação de eritrócitos radiomarcadas por certos macrófagos teciduais.

Outro método para avaliar a fagocitose *in vitro* é determinar a quantidade de microesferas de látex capturadas por macrófagos. A avaliação da capacidade de células NK de lisar células tumorais é realizada com a incubação de células-alvo radiomarcadas com as células NK e com a medida da quantidade de radioatividade liberada na solução pelas células-alvo lisadas.

Imunidade adquirida: humoral O ensaio de células formadoras de anticorpos (AFC) testa a capacidade do hospedeiro responder com produção de quantidades de anticorpos para um antígeno específico. A produção de anticorpos requer a interação coordenada das diferentes células imunes: macrófagos, células T e células B. Portanto, o efeito em qualquer uma dessas células (p. ex., processamento e apresentação do antígeno, produção de citocinas, proliferação ou diferenciação celular) pode produzir um impacto na capacidade das células B de produzir anticorpos antígeno-específicos.

Um teste AFC padrão envolve camundongos imunizados com hemácias. O antígeno é injetado no baço, e ocorre a resposta produtora de anticorpos. Quatro dias após a imunização, o baço é retirado, e os esplenócitos são misturados com hemácias, complemento e ágar. A mistura é plaqueada e incubada até que as células B secretem anticorpos IgM anti-hemácias. Esses anticorpos se ligam às hemácias no ágar, e áreas de hemólise (placas) podem ser visualizadas.

O teste AFC pode ser realizado *in vivo* usando soro de sangue periférico de animais imunizados e um teste ELISA (Fig. 12.5). O soro do camundongo imunizado com hemácias é incu-

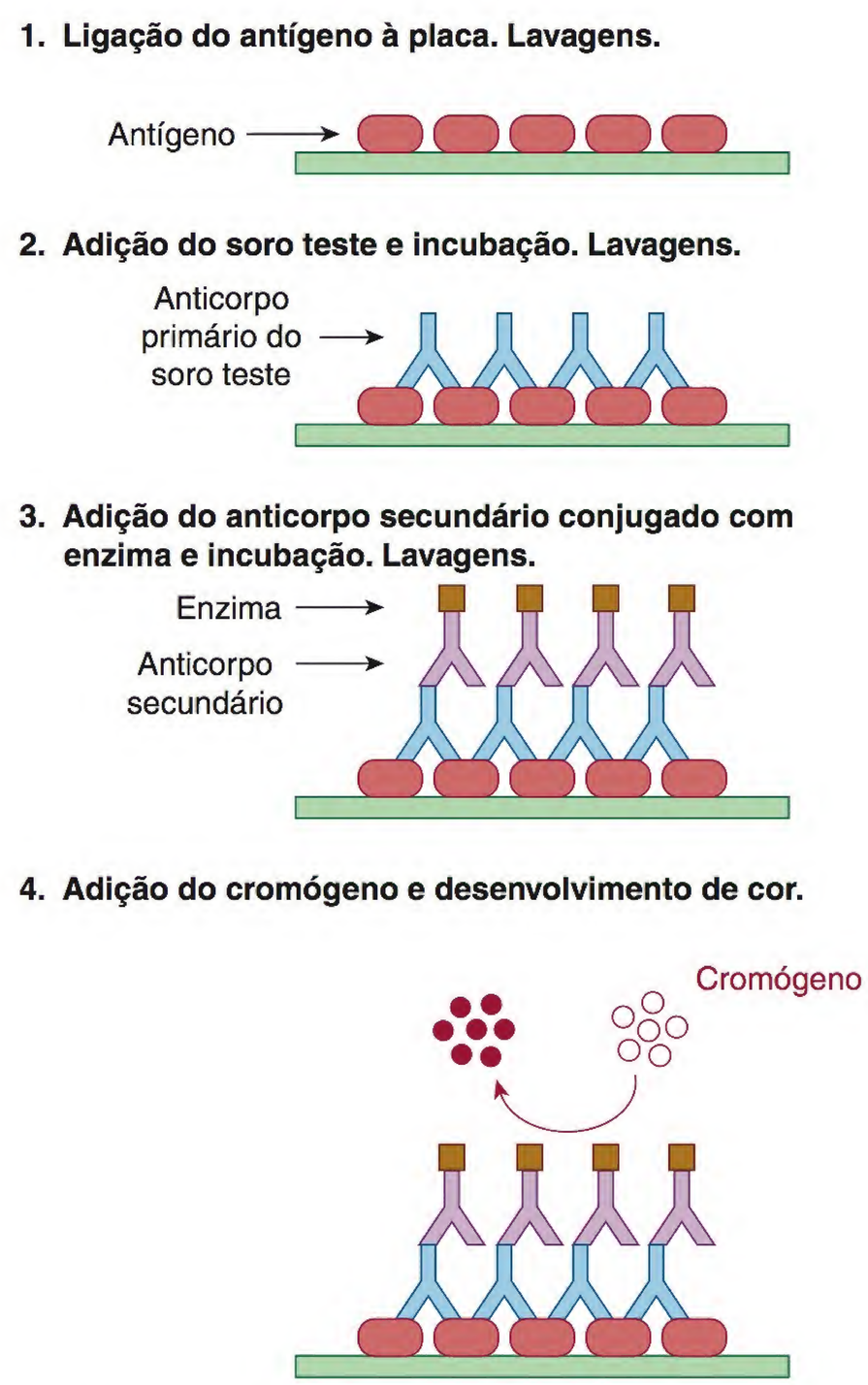


FIGURA 12.5 Diagrama esquemático de um teste ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*) padrão.

bado em uma microplaca que tenha sido revestida com membranas de hemácias, que servirá como antígeno para os anticorpos específicos IgM ou IgG. Após incubação, é adicionado um anticorpo monoclonal contra IgM (ou IgG) conjugado com enzima (anticorpo secundário). Esse anticorpo monoclonal reconhece IgM (ou IgG) e liga-se especificamente ao anticorpo que se ligou no antígeno. Então, adiciona-se um substrato-cromógeno específico para a enzima. O substrato, em contato com a enzima do anticorpo secundário, sofre alteração de cor, que pode ser detectada e mensurada por espectrofotômetro de microplacas.

Imunidade adquirida: celular Entre os numerosos testes de estudo da imunidade mediada por células (CMI), três são realizados de forma rotineira: de linfócitos T citotóxicos (CTL), da resposta de hipersensibilidade tardia (HTT) e de resposta proliferativa de células T estimuladas com antígenos.

O ensaio de CTL mede a habilidade *in vitro* de células T esplênicas de reconhecer células-alvo alogênicas ou antigenicamente estranhas, pela avaliação da capacidade de a célula T proliferar e, então, lisar a célula-alvo. Os CTLs são incubados com as células-alvo previamente tratadas para não proliferarem. Os CTLs reconhecem as células-alvo e, então, proliferam, são coletados e incubados com células-alvo radiomarcadas. Os CTLs que tenham adquirido memória reconhecem as proteínas estranhas MHC classe I das células-alvo e destroem-nas.

O ensaio de HTT avalia a capacidade de células T de memória de reconhecer o antígeno estranho, proliferar e migrar para o sítio do antígeno e secretar citocinas *in vivo*. Camundongos são sensibilizados por injeção do antígeno via subcutânea. Iodo radioativo é injetado na corrente sanguínea do animal e, assim, incorpora-se a células mononucleares circulantes. Um pouco de antígeno é injetado na orelha do camundongo. Após a eutanásia do animal, é avaliada a presença de células mononucleares radiomarcadas no tecido da orelha.

Há vários outros mecanismos de avaliação da capacidade proliferativa das células T na CMI. A resposta mista de linfócitos (MLR), por exemplo, mede a capacidade de células T de reconhecerem moléculas estranhas MHC classe I e sofrerem proliferação.

Citometria de fluxo A técnica de citometria de fluxo emprega dispersão de luz, fluorescência e medidas de absorbância de luz emitida para identificar e quantificar as células do indivíduo. Anticorpos monoclonais específicos para determinadas moléculas celulares são marcados com fluorocromos e, assim, podem detectar células específicas. Essa abordagem tem sido muito utilizada para prover informações sobre os subtipos de células T envolvidos após a exposição a xenobióticos e identificar possíveis efeitos na maturação de células T.

Abordagem molecular na imunotoxicologia A abordagem proteômica (estudo das proteínas expressas por uma célula particular, ou seja, a expressão funcional do genoma) e a genômica (estudo dos genes codificados pelo DNA de um organismo), combinadas com bioinformática, facilitam a avaliação de alterações induzidas por xenobióticos nas vias e na rede de sinalização do sistema imune.

Abordagem dos mecanismos na imunotoxicologia Uma vez que um agente (composto) tenha sido identificado como imunotoxicante, torna-se necessário o estudo dos mecanismos envolvidos. A estratégia geral inclui os seguintes passos: (1) identificar as células-alvo do agente; (2) determinar se os efeitos são mediados pelo composto em si ou por um metabólito dele; (3) determinar se os efeitos são mediados direta ou indiretamente pelo agente (xenobiótico); e (4) elucidar os eventos moleculares responsáveis pelas alterações funcionais das células.

Abordagem regulatória para avaliação da imunotoxicidade

Abordagem das etapas do NTP Triagens para potenciais agentes imunotóxicos do Programa Nacional de Toxicologia empregam etapas de abordagem. A etapa I provê avaliação da toxicidade geral (imunopatologia, hematologia e peso do corpo e órgãos), bem como ensaios funcionais (respostas proliferativas, ensaio de anticorpos – AFC e ensaios de célula NK). A etapa II foi designada para estudos adicionais para definir o efeito imunotóxico e inclui testes para CMI (CTL e HTT), respostas secundárias de anticorpos, enumeração de populações de linfócitos e modelos de resistência do hospedeiro.

Normas de saúde para testes de imunotoxicidade Normas para avaliação funcional da imunotoxicidade em estudos regulatórios recomendam a condução de três testes. A avaliação da imunotoxicidade começa pela exposição ao xenobiótico por pelo menos 28 dias, seguindo-se a avaliação da resposta humoral. Se o composto produz supressão significativa da resposta humoral, é feita a avaliação de marcadores celulares por citometria de fluxo. Se o composto não produz supressão de resposta humoral, a avalição de imunidade inata (ensaio de células NK) deve ser feita.

Modelos animais em imunotoxicologia

Ratos e camundongos têm sido animais de escolha para o estudo da ação de xenobióticos sobre o sistema imune por algumas razões: (1) informações sobre o sistema imune desses animais estão disponíveis em grande quantidade; (2) o custo de manutenção de roedores é menor do que o de animais maiores; e (3) uma ampla variedade de reagentes murinos (citocinas e anticorpos) está disponível. Alguns reagentes disponíveis para o estudo do sistema imune humano podem ser usados em macacos. Galinhas e peixes têm sido usados para avaliar a imunotoxicidade de xenobióticos como alternativa de modelo experimental animal considerando impacto ambiental, bem como aspectos éticos em experimentação animal.

A manipulação de genoma embrionário, criando camundongos transgênicos ou nocauteados (*knockout*) para algum gene, permite que a resposta imune complexa seja dissecada em seus componentes. Desse modo, os mecanismos pelos quais os imunotoxicantes atuam podem ser mais bem esclarecidos. Camundongos com imunodeficiência combinada grave (SCID) têm sido usados para estudar imunorregulação, hematopoiese, hipersensibilidade e autoimunidade.

Análise de mecanismos de ação

Efeitos diretos sobre o sistema imune devem incluir efeitos químicos na função imune, alterações estruturais nos órgãos linfoides ou nas membranas das células imunes, ou mudanças nos

órgãos linfoides ou no soro circulante. Xenobióticos também podem exercer efeitos indiretos no sistema imune. Eles podem ser metabolicamente ativados a metabólitos tóxicos e podem, também, ter efeitos em órgãos de outros sistemas (p. ex., lesões hepáticas), que, então, impactam o sistema imune.

IMUNOMODULAÇÃO POR XENOBIÓTICOS

Imunossupressão

A imunossupressão pode ser produzida por numerosas substâncias químicas naturais e sintéticas, como as listadas na Tabela 12.4.

Fumantes (tabaco) Defesas pulmonares contra gases ou partículas inalados são dependentes de mecanismos físicos e imunológicos. Os mecanismos imunes envolvem primariamente interações complexas entre PMNs e macrófagos alveolares e suas capacidades de fagocitar material estranho e produzir citocinas.

Em humanos fumantes, o número de macrófagos alveolares está aumentado três a cinco vezes em comparação com não fumantes, e os macrófagos parecem estar ativados, mas com menor atividade fagocítica e bactericida. Níveis de Ig reduzidos e diminuição da atividade de células NK têm sido relatados em fumantes. Também há leucocitose (aumento de células T e B) dependente de concentração em fumantes. Foram conduzidos numerosos estudos imunológicos em animais expostos a fumaça de cigarros demonstrando respostas de supressão de produção de anticorpos.

TABELA 12.4 Xenobióticos imunossupressores

Hidrocarbonetos aromáticos halogenados
Bifenil policlorado Bifenil polibrominado Dibenzodioxinas policloradas Dibenzofuranos policlorados
Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos
Nitrosaminas
Pesticidas
Pesticidas organofosforados Pesticidas organoclorados Pesticidas organotina Pesticidas carbamatos Peritroides
Metais
Arsênico Berílio Cádmio Cromo Cobalto Ouro Mercúrio Níquel Chumbo Platina
Substâncias inaladas
Asbestos Etilenodiamina Formaldeído Sílica Fumaça de cigarro Uretano
Gases oxidantes
Ozônio (O_3) Dióxido de nitrogênio (NO_2) Dióxido de enxofre (SO_2) Fosfogênio

Hidrocarbonetos aromáticos
Tetracloreto de carbono Etilenoglicol monometil éter 2-metoxietanol
Micotoxinas
Aflatoxina Ocratoxina Tricotecenos Vomitoxina
Hormônios naturais e sintéticos
Estrógenos Andrógenos Glicocorticoides
Terapêuticos
Terapêutica para aids Biológicos Agentes anti-inflamatórios
Substâncias imunossupressoras
Azatioprina Ciclofosfamida Ciclosporina A Leflunomida Rapamicina Estavudina (2′,3′-dideoxitimidina) Videx (2′,3′-dideoxiinosina; ddI) Zalcitabina (2′,3′-dideoxicitidina; ddC) Zidovudina (3′-azido-3′-deoxitimidina; AZT)
Substâncias de abuso
Canabinoides Cocaína Etanol Opioides: heroína e morfina

Proteínas derivadas de DNA recombinante Proteínas biológicas (p. ex., sangue e produtos de vacina) e derivadas de DNA recombinante podem estimular a produção de anticorpos neutralizantes. Os efeitos desses anticorpos podem também provocar respostas de hipersensibilidade.

Radiação ultravioleta A radiação ultravioleta (RUV) suprime respostas de HTT em animais e humanos e resulta em menor resistência a infecções. A indução de células T supressoras e alterações no *homing* celular têm sido sugeridas como possibilidades. Uma explicação plausível é que a RUV induz uma alteração (*switch*) da resposta Th1 (favorece HTT) para resposta Th2 (favorece resposta de anticorpos).

HIPERSENSIBILIDADE INDUZIDA POR XENOBIÓTICOS E AUTOIMUNIDADE

O propósito do sistema imune é proteger o indivíduo de doenças, sejam infecciosas, parasitárias ou cancerosas, por meio de ambos os mecanismos, humoral e celular. A habilidade de distinguir o próprio (*self*) do estranho (*nonself*) tem papel predominante. Todavia, surgem situações nas quais o sistema imune do indivíduo responde de modo a produzir lesões teciduais, resultando em doença autoinduzida, seja (1) hipersensibilidade ou alergia ou (2) autoimunidade. Reações de hipersensibilidade resultam de respostas imunes inapropriadas e exageradas. No caso de autoimunidade, os mecanismos de reconhecimento do *self* quebram-se, e Igs e TCRs reagem com antígenos *self*, resultando em lesão tecidual e doença.

Hipersensibilidade

Classificação das reações de hipersensibilidade Os quatro tipos de reações de hipersensibilidade requerem prévia exposição ao antígeno que desencadeia a reação em contato subsequente. A Figura 12.6 ilustra os mecanismos de hipersensibilidade de acordo com a classificação de Coombs e Gell.

Tipo I (hipersensibilidade imediata) A sensibilização ocorre como resultado da exposição a antígenos apropriados pelo trato respiratório, pela derme ou pelo trato gastrintestinal, e é mediada pela produção de anticorpos IgE. Estes se ligam a mastócitos e sensibilizam o indivíduo; a reexposição ao antígeno resulta em degranulação dos mastócitos com liberação de mediadores pré-formados e citocinas que promovem vasodilatação, broncoconstrição e inflamação dos tecidos.

Tipo II (citotoxicidade mediada por anticorpos) A hipersensibilidade tipo II é mediada por IgG. As lesões teciduais são resultado da ação direta de células citotóxicas ou pelos anticorpos que ativação o sistema complemento via clássica, causando lise celular.

Tipo III (hipersensibilidade mediada por imunocomplexos) As reações de hipersensibilidade tipo III também envolvem IgG. As Igs formam imunocomplexos com antígenos solúveis, e esses complexos podem se depositar em vários tecidos, causando danos teciduais. As localizações mais comuns são o endotélio vascular no pulmão, nas articulações e nos rins. Macrófagos, neutrófilos e plaquetas são atraídos para o local do depósito dos complexos e contribuem mais ainda para as lesões teciduais.

Tipo IV (hipersensibilidade mediada por células) A hipersensibilidade tipo IV é uma resposta do tipo tardio (HTT). A hipersensibilidade por contato inicia-se pela exposição tópica e consiste em duas fases: sensibilização e desencadeamento. A sensibilização resulta no desenvolvimento de células T ativadas e de memória quando substâncias químicas são apresentadas por células (APCs) aos linfócitos T auxiliadores (Th) nos linfonodos locais.

Em contato posterior, células dendríticas de Langerhans apresentadoras de antígeno apresentam o hapteno processado e ligado a carreadores aos linfócitos T de memória. Essas células ativadas secretam, então, citocinas que induzem proliferação adicional das células T e facilitam a movimentação de células inflamatórias para dentro da pele, resultando em eritema com formação de pápulas e vesículas. As células da resposta imune celular podem causar danos teciduais locais.

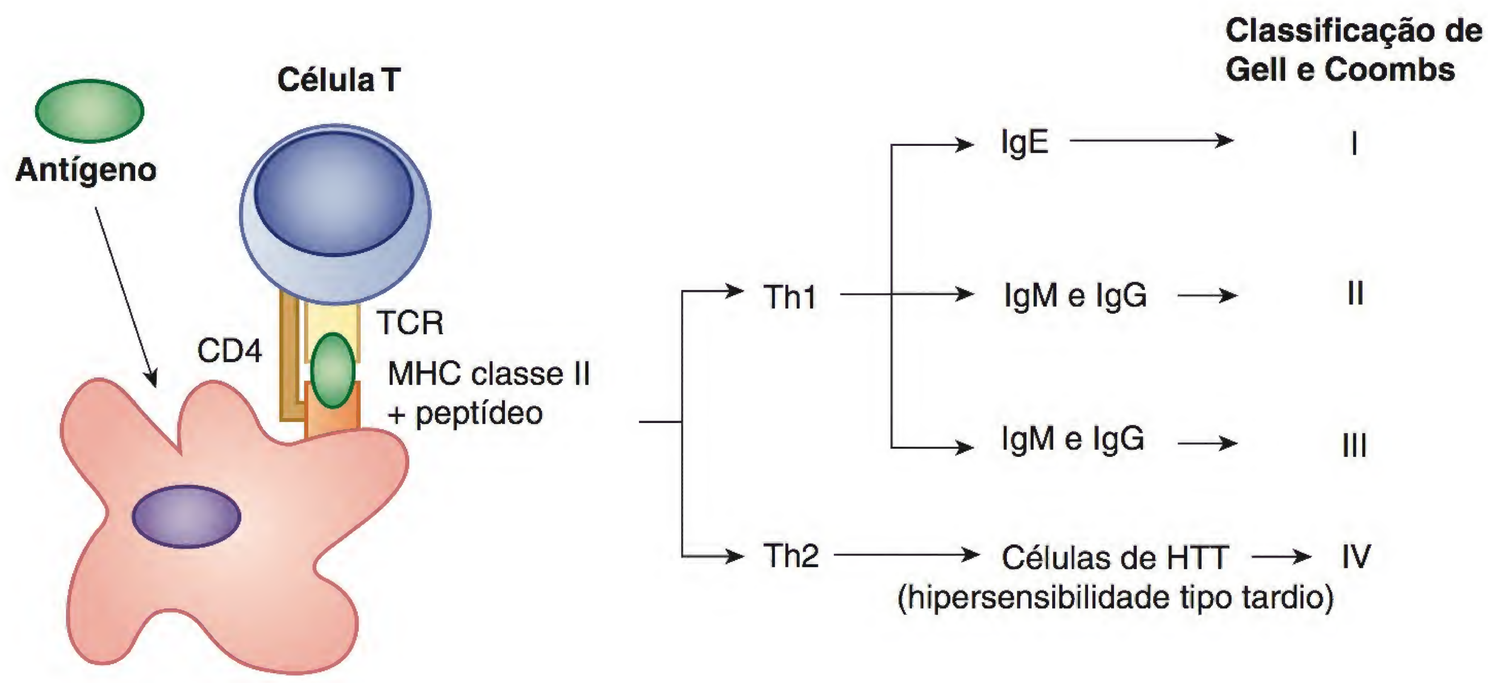


FIGURA 12.6 Esquema da classificação das reações de hipersensibilidade.

Considerando que a separação das respostas de hipersensibilidade em tipos I a IV é útil para entender os mecanismos envolvidos, essa identificação é importante para compreender a patologia que pode ser resultado da combinação desses mecanismos.

Avaliação das reações de hipersensibilidade

Avaliação da hipersensibilidade respiratória em animais de experimentação Métodos para detectar hipersensibilidade pulmonar podem ser divididos em dois tipos: (1) aqueles para detectar a sensibilização imunológica e (2) aqueles para detectar a sensibilização pulmonar. Nos casos dos tipos I, II e III, a sensibilização imunológica ocorre quando a Ig é produzida em resposta à exposição a um antígeno específico, e, no caso do tipo IV, quando uma população de linfócitos T sensibilizados é produzida. A sensibilização pulmonar é determinada por alterações na função respiratória subsequente ao desafio antigênico do animal sensibilizado.

Modelos animais de cobaias (porquinho-da-índia) têm sido frequentemente utilizados porque seu pulmão é o mais afetado na resposta anafilática. A sensibilização imunológica pode ser determinada pela obtenção de amostras de sangue sequenciais ao longo do período de indução com quantificação dos níveis de anticorpos. A sensibilização pulmonar é avaliada pela detecção de reatividade pulmonar (seja pela angústia respiratória visível ou por mudanças na função respiratória) após contato subsequente com o antígeno.

Avaliação da hipersensibilidade mediada por IgE em humanos Dois testes de pele estão disponíveis para mensurar a hipersensibilidade à reação de eritema e edema. O teste de punctura (*prick test*) introduz quantidades mínimas de antígeno na pele. Para que os antígenos do teste não sensibilizem o paciente, o teste intradérmico usa diluições do antígeno, mas sempre há o risco de reações sistêmicas em pacientes muito sensíveis.

Testes *in vitro*, ELISAs e RASTs (*radioallergosorbent tests*) podem ser usados para detectar anticorpos IgE específicos no soro do paciente.

Testes de provocação brônquica podem ser realizados no paciente que inala o antígeno, para que sua resposta pulmonar seja avaliada.

Avaliação da hipersensibilidade de contato em animais de experimentação Os dois testes mais utilizados usam modelo em cobaias: o teste Büehler e o teste de maximização. No teste Büehler, o artigo em teste é aplicado nas costas (depiladas) e coberto com uma bandagem durante 6 horas, uma vez por semana, por 3 semanas. No 28º dia, uma dose desafio do artigo é aplicada no lado oposto das costas no qual se aplicou a dose sensibilizante; essa área é avaliada para sinais de edema e eritema durante 2 dias. No teste de maximização, o artigo teste é administrado em cobaia sensibilizada, via injeção intradérmica, em doses irritantes, adicionado a um adjuvante. Esses dois ensaios avaliam a fase desencadeante da resposta hipersensível em animais previamente sensibilizados.

Para identificação de risco de substâncias químicas sensibilizantes pode ser utilizado o ensaio de linfonodos de cobaias. Os animais são submetidos à aplicação tópica do artigo teste nas orelhas por 3 dias consecutivos. Alguns dias depois, injeta-se timidina radiomarcada no animal, que será incorporada por células em proliferação. Os animais são, então, sacrificados, e os linfonodos locais, avaliados para presença de linfócitos radiomarcados, indicando que o artigo teste induziu resposta imune.

Avaliação da hipersensibilidade de contato em humanos O teste para hipersensibilidade de contato em humanos é feito pelo teste de pele com adesivos (*patch test*). Adesivos oclusivos contendo concentrações específicas do alérgeno em veículo excipiente apropriado são aplicados e ficam em contato com a pele por 48 horas. Depois que o adesivo é removido, a área é avaliada para presença de eritema, pápulas, vesículas e edema. Em geral, a leitura é feita novamente no dia seguinte (72 horas). Em alguns casos, os sinais podem aparecer até 1 semana após a aplicação.

Reações de hipersensibilidade causadas por xenobióticos

Vários xenobióticos induzem reações de hipersensibilidade. Poliisocianatos e diisocianato de tolueno, usados na produção de adesivos e revestimentos, são particularmente reconhecidos como indutores do amplo espectro de hipersensibilidades, do tipo I ao tipo IV, bem como de reações pulmonares neurorreflexas e inflamatórias não imunes. Anidridos ácidos inalados, utilizados na produção de tintas, vernizes, revestimentos, adesivos e materiais de fundição e seladoras, podem se conjugar com albumina sérica e eritrócitos, provocando reações de hipersensibilidade tipos I, II ou III em contatos subsequentes.

Metais Metais e substâncias metálicas, incluindo sais metálicos, são responsáveis pela produção de hipersensibilidade pulmonar e de contato. Platina, níquel, cromo, berílio e cobalto são frequentemente implicados.

Fármacos Respostas de hipersensibilidade a fármacos estão entre as mais imprevisíveis reações a essas substâncias. Os fármacos são projetados para serem reativos no organismo, e múltiplos tratamentos são comuns. O tipo de exposição contribui para a produção de reação imunológica. Os mecanismos imunológicos de reações de hipersensibilidade a fármacos incluem os tipos I ao IV. A penicilina é o agente mais comumente envolvido em alergia a fármacos.

Pesticidas Pesticidas têm sido implicados como agentes causadores de ambas as reações de hipersensibilidade, de contato e imediata.

Látex O látex de borracha é utilizado em mais de 40 mil produtos, desde balões a luvas cirúrgicas. As reações dermatológicas ao látex incluem dermatites irritativas e de contato.

Produtos cosméticos e de higiene pessoal Dermatites de contato e dermatoconjuntivites podem ser resultado de exposição a muitos produtos cosméticos e de higiene pessoal. Esses agentes contêm éster de parabeno, ácido sórbico, fenóis, organomercuriais, compostos de amônio quaternário e formaldeído.

Enzimas Subtilina e papaína são enzimas capazes de desencadear respostas de hipersensibilidade tipo I. A subtilina é usada em detergentes de lavanderia. Tanto indivíduos que trabalham nas empresas produtoras quanto os que utilizam o produto po-

dem ser sensibilizados. Exposições subsequentes podem produzir sinais de rinite, conjuntivite e asma. A papaína é outra enzima conhecida como indutora de doenças mediadas por IgE. É uma enzima usada para amaciar carnes e como agente clarificante na produção de cervejas.

Formaldeído A exposição ao formaldeído ocorre em indústrias cosméticas e têxteis, de móveis e de resinas. A exposição ocupacional à substância tem sido associada à ocorrência de asma.

Autoimunidade

Nos casos de autoimunidade, antígenos próprios (*self*) são o alvo, e, no caso de substâncias químicas induzindo autoimunidade, a doença é causada por modificações nos tecidos ou no sistema imune do hospedeiro desencadeadas pela substância química, e não pela substância química atuando como antígeno/hapteno.

Mecanismos de autoimunidade Três tipos de moléculas estão envolvidos no processo de reconhecimento do *self*: Igs TCRs e produtos do MHC. Igs e TCRs são expressos clonalmente em células B e T, respectivamente, enquanto moléculas MHC estão presentes em todas as células nucleadas.

O processo de seleção negativa contra células T autorreativas no timo é importante na prevenção de doenças autoimunes. Células T expressando receptores que se ligam a antígenos *self* sofrem apoptose (seleção negativa), enquanto aquelas células que não reconhecem antígenos *self* proliferam (seleção positiva) e migram para os órgãos linfoides periféricos. Algumas células que reconhecem moléculas *self* não são eliminadas, mas sofrem anergia, ou seja, permanecem no organismo, mas são inativas.

Vários mecanismos podem quebrar a autotolerância, ocasionando autoimunidade. Primeiro, se a exposição ao antígeno não ocorre no timo durante o desenvolvimento embrionário, como a exposição à mielina que é produzida tardiamente durante o desenvolvimento, as células reativas para esses antígenos não estão sujeitas à seleção negativa, e podem induzir autoimunidade. A quebra de autotolerância a esses antígenos pode ser induzida por exposição a adjuvantes, substâncias químicas usadas para aumentar a imunogenicidade, ou a outra proteína relacionada quimicamente com a molécula *self*. Segundo, a anergia de células T pode ser vencida pela estimulação crônica de linfócitos. Terceiro, interferências com a imunorregulação pelos linfócitos T CD8+ supressores podem criar um ambiente estimulante para o desenvolvimento de autoimunidade.

Assim como nas reações de hipersensibilidade, a doença autoimune costuma ser resultado de mais de um mecanismo ocorrendo simultaneamente. Portanto, a patologia pode resultar de citotoxicidade mediada por anticorpos, lise celular mediada por anticorpos e complemento ou efeito de células T citotóxicas.

Reações autoimunes causadas por xenobióticos A Tabela 12.5 lista as substâncias químicas conhecidas como associadas com autoimunidade, mostrando o determinante antigênico *self* proposto ou atuando como adjuvante. A Tabela 12.6 mostra as substâncias químicas que estão envolvidas em doenças autoimunes, mas nesses casos, os mecanismos ainda não foram determinados ou confirmados.

TABELA 12.5 Agentes químicos reconhecidos como associados com autoimunidade

Antígeno químico proposto	Manifestações clínicas	Tecido-alvo da autoimunidade
Substâncias		
Metildopa	Anemia hemolítica	Antígeno Rh (rhesus)
Hidralazina	Síndrome LES-like*	Mieloperoxidase
Isoniazida	Síndrome LES-like	Mieloperoxidase
Procainamida	Síndrome LES-like	DNA
Halotano	Hepatite autoimune	Proteínas microssomais do fígado
Não medicamentos		
Cloreto de vinil	Síndrome semelhante à esclerodermia	Proteína anormal sintetizada no fígado
Mercúrio	Neuropatia glomerular	Proteína de membrana basal glomerular
Sílica	Esclerodermia	Provavelmente atua como adjuvante

* Síndrome LES-like = síndrome semelhante à doença autoimune lúpus eritematoso sistêmico.

TABELA 12.6 Substâncias químicas implicadas na autoimunidade

Manifestação	Substância química implicada
Esclerodermia	Solventes (tolueno, xileno) Triptofano Silicones
Lúpus eritematoso sistêmico	Fenotiazinas Penicilamina Propiltiouracil Quinidina L-DOPA Carbonato de lítio Tricloroetileno Silicones

Síndrome de sensibilidade a múltiplas substâncias químicas A síndrome de sensibilidade a múltiplas substâncias químicas tem sido associada com respostas de hipersensibilidade. A síndrome é caracterizada por múltiplos sintomas subjetivos relativos a mais de um sistema. Os sintomas mais comuns são congestão nasal, dor de cabeça, perda de concentração, fadiga e perda de memória. Muitos mecanismos têm sido sugeridos para explicar como as substâncias causam esses sintomas. A principal hipótese considera que a síndrome ocorre quando a exposição química sensibiliza alguns indivíduos, e, em contato subsequente com

quantidades muito pequenas da substância ou de outra não relacionada, o indivíduo exibe resposta adversa.

NOVAS PERSPECTIVAS E DESAFIOS NA IMUNOTOXICOLOGIA

Novas tecnologias têm trazido mais questões a serem respondidas e novas ferramentas para avaliar essas questões. Os desafios importantes da imunotoxicologia devem ser direcionados incluindo: (1) como interpretar o significado de efeitos imunotóxicos mínimos ou moderados em modelos animais na avaliação de risco humano; (2) como integrar melhor as causas da exposição, sobretudo a múltiplos agentes simultaneamente, na avaliação imunotoxicológica; (3) como elaborar melhores estudos em humanos para avaliar o impacto no sistema imune em espécies animais de interesse no contexto da avaliação de risco; (4) como identificar e estabelecer biomarcadores humanos sensíveis à imunotoxicidade; (5) como obter melhor compreensão do papel da genética e identificar subpopulações sensíveis a agentes que alteram o sistema imune.

A hipersensibilidade sistêmica é causa frequente para a retirada de fármacos do mercado. Esses achados são, em geral, inesperados, já que não foram percebidos nos estudos toxicológicos e imunotoxicológicos. Ainda são necessários testes que possam predizer antigenicidade de fármacos, alergia a alimentos e hipersensibilidade em humanos.

Vem aumentando o uso de métodos informatizados na toxicologia para predizer potenciais atividades biológicas e toxicológicas de substâncias químicas. A premissa é a de que a estrutura química determine propriedades físico-químicas e reatividades que impliquem em propriedades biológicas ou toxicológicas. Sendo capazes de predizer potenciais efeitos adversos, esses métodos ajudarão nos projetos de desenvolvimento de novas substâncias químicas e reduzirão a necessidade de testes em animais.

Estão em andamento esforços para explorar biomarcadores que indiquem exposição a substâncias específicas, suscetibilidade a efeitos adversos e/ou predição de doenças associadas com a exposição química. Os marcadores mais desejáveis são os que indiquem exposição na ausência de efeito adverso imediato. Biomarcadores de efeito poderiam indicar efeitos subclínicos de exposição química. Biomarcadores potenciais incluem padrão de expressão de genes de citocinas, quantificação de populações celulares usando citometria de fluxo e títulos de anticorpos circulantes.

A avaliação do uso de dados imunotoxicológicos de animais com prognósticos de risco para efeitos clínicos humanos tem mostrado limitações, incluindo o fato de que nenhum teste imunológico simples é altamente prognóstico de alteração de resistência do hospedeiro. A variabilidade na virulência de agentes infecciosos na população humana, a complexidade e a redundância do sistema imune (múltiplos componentes capazes de responder a desafios estranhos), todos podem contribuir para a dificuldade em quantificar relações entre alterações induzidas por substâncias químicas no *status* imune e alterações na resistência do hospedeiro humano.

O balanço entre o reconhecimento imune e a destruição de invasores estranhos e proliferação desses micróbios e/ou células cancerosas pode ser bem precário. Métodos validados para detectar xenobióticos que produzem efeitos adversos relacionados com o sistema imune devem ser continuamente melhorados usando o mais recente conhecimento e tecnologias para providenciar um ambiente seguro.

REFERÊNCIAS

Descotes J: Immunotoxicology of Drugs and Chemicals: An Experimental and Clinical Approach, 3rd ed. San Diego: Elsevier, 2004.

Hayes AW: Principles and Methods of Toxicology, 5th ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor and Francis, 2007.

Paul WE (ed): Fundamental Immunology, 5th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2003.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes células ou substâncias NÃO faz parte do sistema imune inato?
   a. Lisozima
   b. Monócitos
   c. Complemento
   d. Anticorpos
   e. Neutrófilos

2. Células-tronco precursoras da série mieloide são responsáveis pela formação de todos os componentes a seguir, EXCETO:
   a. Plaquetas
   b. Linfócitos
   c. Basófilos
   d. Eritrócitos
   e. Monócitos

3. Quando uma mãe Rh-negativo é exposta ao sangue de um bebê Rh-positivo durante o parto, a mãe irá produzir anticorpos anti-Rh, que podem fazê-la atacar um posterior feto Rh-positivo. Isso é possível porque qual dos anticorpos tem a capacidade de atravessar a placenta?
   a. IgM
   b. IgE
   c. IgG
   d. IgA
   e. IgD

4. Qual das seguintes assertivas é FALSA com relação à função importante da citocina na regulação do sistema imune?
   a. A IL-1 induz inflamação e febre.
   b. A IL-3 é fator primário de crescimento de célula T.
   c. A IL-4 induz diferenciação de célula B e troca (*switching*) de isótipo.
   d. O fator de transformação de crescimento-beta (TGF-β) aumenta a quimiotaxia de monócito/macrófago.
   e. O interferon-γ (IFN-γ) ativa macrófagos.

5. Qual, a seguir, NÃO é um passo realizado durante o teste ELISA (*enzyme-linked immunosorbent assay*)?
   a. Um cromógeno é adicionado, e a cor se desenvolve.
   b. O antígeno de interesse é fixado na microplaca.
   c. Células radiomarcadas são adicionadas à solução.
   d. Anticorpos secundários conjugados à enzima são adicionados.
   e. O soro teste é adicionado.

6. O teste que avalia a resposta de hipersensibilidade tipo tardio (HTT) NÃO:
   a. Avalia a habilidade de as células T de memória reconhecerem um antígeno estranho.
   b. Avalia a habilidade de as células T de memória secretarem citocinas.
   c. Avalia a habilidade de as células T de memória proliferarem.
   d. Avalia a habilidade de as células T de memória lisarem células-alvo estranhas.
   e. Avalia a habilidade de as células T de memória migrarem para o sítio do antígeno estranho.

7. O número de macrófagos alveolares em fumantes é muito maior em relação aos não fumantes. Qual é a característica dos macrófagos alveolares encontrada nos fumantes?
   a. Eles estão em estado inativo.
   b. Eles são maiores do que o normal.
   c. Eles apresentam capacidade fagocítica aumentada.
   d. Eles são incapazes de produzir citocinas.
   e. Eles apresentam capacidade bactericida diminuída.

8. Qual das seguintes NÃO é uma característica da reação de hipersensibilidade tipo I?
   a. É mediada por IgE.
   b. Envolve deposição de imunocomplexos nos tecidos periféricos.
   c. Envolve degranulação de mastócitos.
   d. A anafilaxia é uma reação de hipersensibilidade tipo I aguda, sistêmica e muito grave.
   e. É geralmente mediada por histamina pré-formada, prostaglandinas e leucotrienos.

9. Qual dos seguintes tipos de hipersensibilidade NÃO é mediado por anticorpos?
   a. Tipo I
   b. Tipo II
   c. Tipo III
   d. Tipo IV
   e. Tipo V

10. Qual dos seguintes NÃO é um mecanismo comum de distúrbios autoimunes?
    a. Sujeito à seleção positiva no timo.
    b. Células T anérgicas são ativadas.
    c. Interferência com imunorregulação normal por células T $CD8^+$ supressoras.
    d. Perda da sujeição à seleção negativa no timo.
    e. Autotolerância diminuída.

CAPÍTULO

13

Toxicidade Hepática pela Exposição a Xenobióticos

Hartmut Jaeschke

INTRODUÇÃO

FISIOLOGIA DO FÍGADO

- **Funções hepáticas**
- **Organização estrutural**
- **Formação da bile**

FISIOPATOLOGIA DO FÍGADO

- **Mecanismos e tipos de danos hepáticos induzidos pela exposição a xenobióticos**
  - Morte celular
  - Colestase canalicular
  - Lesão do ducto biliar
  - Dano sinusoidal
  - Ruptura do citoesqueleto
  - Esteatose hepática
  - Fibrose e cirrose
  - Tumores
- **Fatores relacionados com dano hepático induzido por xenobióticos**
  - Captação e concentração
  - Bioativação e detoxificação
  - Regeneração
  - Inflamação e respostas imunes
  - Ativação de células sinusoidais
  - Lesão mitocondrial
  - Lesão hepática idiossincrática

DIREÇÕES FUTURAS

PONTOS-CHAVE

- A localização estratégica do fígado entre o trato intestinal e o restante do organismo facilita a manutenção da homeostase metabólica.
- O fígado capta nutrientes, vitaminas, metais, xenobióticos em geral e produtos residuais de bactérias procedentes do sangue para catabolismo, acúmulo e/ou excreção na bile.
- A formação da bile é essencial para a captação de nutrientes lipídicos do intestino delgado, para proteção do intestino delgado contra danos oxidativos e para excreção de compostos endógenos e xenobióticos.
- A colestase é uma diminuição no volume de bile formada ou uma diminuição da secreção de solutos específicos na bile, a qual resulta em níveis séricos elevados de sais biliares e bilirrubina.
- Os hepatócitos têm um rico suprimento de enzimas de fase I que biotransformam xenobióticos em substâncias eletrofílicas reativas, e enzimas da fase II que adicionam um grupo polar a uma molécula e, consequentemente, facilitam sua excreção do organismo. O balanço entre as reações de fase I e II irá determinar se um metabólito reativo causará um dano hepático ou será detoxificado.

INTRODUÇÃO

O fígado é o principal órgão no qual as substâncias químicas exógenas são biotransformadas e, por fim, excretadas. Como consequência, as células hepáticas estão expostas a concentrações significantes dessas substâncias químicas, que podem resultar em disfunção hepática, dano celular e até falência do órgão. O fígado, com seus múltiplos tipos de células e numerosas funções, pode apresentar diferentes respostas diante de danos agudos e crônicos. Para reconhecer uma disfunção celular e um dano hepático em potencial, é necessário ter conhecimento geral das funções básicas do fígado, da organização estrutural, dos processos envolvidos na excreção e dos mecanismos envolvidos em uma lesão celular e no órgão por inteiro.

FISIOLOGIA DO FÍGADO

Funções hepáticas

A localização estratégica do fígado entre o trato intestinal e o restante do organismo facilita a manutenção da homeostase metabólica. O sangue venoso procedente do estômago e do intestino flui pela veia porta em direção ao fígado e, em seguida, ingressa na circulação sistêmica. Desse modo, o fígado é o primeiro órgão a ter contato com os nutrientes, as vitaminas, os metais, as substâncias químicas e os toxicantes do meio ambiente, assim como com produtos do metabolismo de bactérias que entram no sangue do sistema porta. Os eficientes processos de captação retiram esses compostos absorvidos para metabolismo, armazenamento e/ou excreção na bile.

As principais funções do fígado podem ser significativamente alteradas pela exposição a toxicantes, sejam exposições agudas ou crônicas (Tab. 13.1). Quando xenobióticos inibem ou impedem os processos de transporte ou de síntese hepática, podem ocorrer disfunções sem que ocorra uma apreciável lesão celular. A perda da função também ocorre quando xenobióticos destroem um número significativo de células ou quando a exposição crônica provoca substituição da massa celular por tecido cicatricial.

Organização estrutural

Classicamente, o fígado é dividido em lóbulos hexagonais orientados em torno de vênulas hepáticas terminais (também conhecidas como veias centrais). Nos cantos do lóbulo estão as tríades portais (ou tratos portais), contendo um ramo da veia portal, uma arteríola hepática e um ducto biliar (Fig. 13.1). O sangue da veia porta e da artéria hepática mistura-se com o sangue das veias perfurantes, entra nos sinusoides, percola os cordões de células parenquimatosas (hepatócitos), flui para as vênulas hepáticas terminais e deixa o fígado pela veia hepática. O lóbulo é dividido em três regiões, conhecidas como centrolobular, mediolobular e periportal. A unidade funcional do fígado é denominada ácino. A base do ácino é formada pelos ramos terminais da veia porta e da artéria hepática, que se estendem a partir dos tratos portais. O ácino apresenta três zonas: a zona 1 é a mais próxima à entrada do sangue, a zona 3 é adjacente à veia hepática terminal, e a zona 2 é a zona intermediária. As três zonas do ácino coincidem sensivelmente com as três regiões do lóbulo (Fig. 13.1).

A divisão do ácino em zonas é de considerável consequência funcional com relação a gradientes de componentes sanguíneos e de hepatócitos. O sangue que entra no ácino consiste de sangue depletado de oxigênio procedente da veia porta (60 a 70% do fluxo sanguíneo hepático) mais o sangue oxigenado procedente da artéria hepática (30 a 40%). No percurso até a vênula hepática terminal, o oxigênio deixa rapidamente o sangue em direção às células parenquimatosas com elevada demanda metabólica. Os hepatócitos na zona 3 estão expostos a concentrações menores de oxigênio se comparados aos da zona 1. Em comparação a outros tecidos, a zona 3 encontra-se em hipoxia. Gradientes acinares bem documentados existem para sais biliares, para bilirrubina e para muitos ânions orgânicos.

A heterogeneidade de níveis proteicos nos hepatócitos ao longo do ácino gera gradientes de funções metabólicas. Nos

TABELA 13.1 Principais funções do fígado e consequências da diminuição da função

Tipo de função	Exemplos	Consequências da diminuição da função
Homeostase de nutrientes	Síntese e estoque de glicose Captação de colesterol	Hipoglicemia, confusão Hipercolesterolemia
Filtração de material particulado	Produtos de bactérias intestinais (p. ex., endotoxina)	Endotoxemia
Síntese proteica	Fatores da coagulação Albumina Transporte de proteínas (p. ex., lipoproteínas de baixa densidade)	Sangramento excessivo Hipoalbuminemia, ascite Fígado gorduroso
Bioativação e detoxificação	Bilirrubina e amônia Hormônios esteroides Xenobióticos	Icterícia, coma associado a hiperamonemia Perda das características sexuais secundárias masculinas Diminuição dos mecanismos de biotransformação Detoxificação inadequada
Formação da bile e secreção biliar	Captação de vitaminas e lipídeos dependentes de ácido biliar Bilirrubina e colesterol Metais (p. ex., Cu e Mn) Xenobióticos	Esteatorreia, desnutrição, deficiência de vitamina E Icterícia, cálculo biliar hipercolesterolemia Neurotoxicidade induzida por Mn *Clearance* retardado

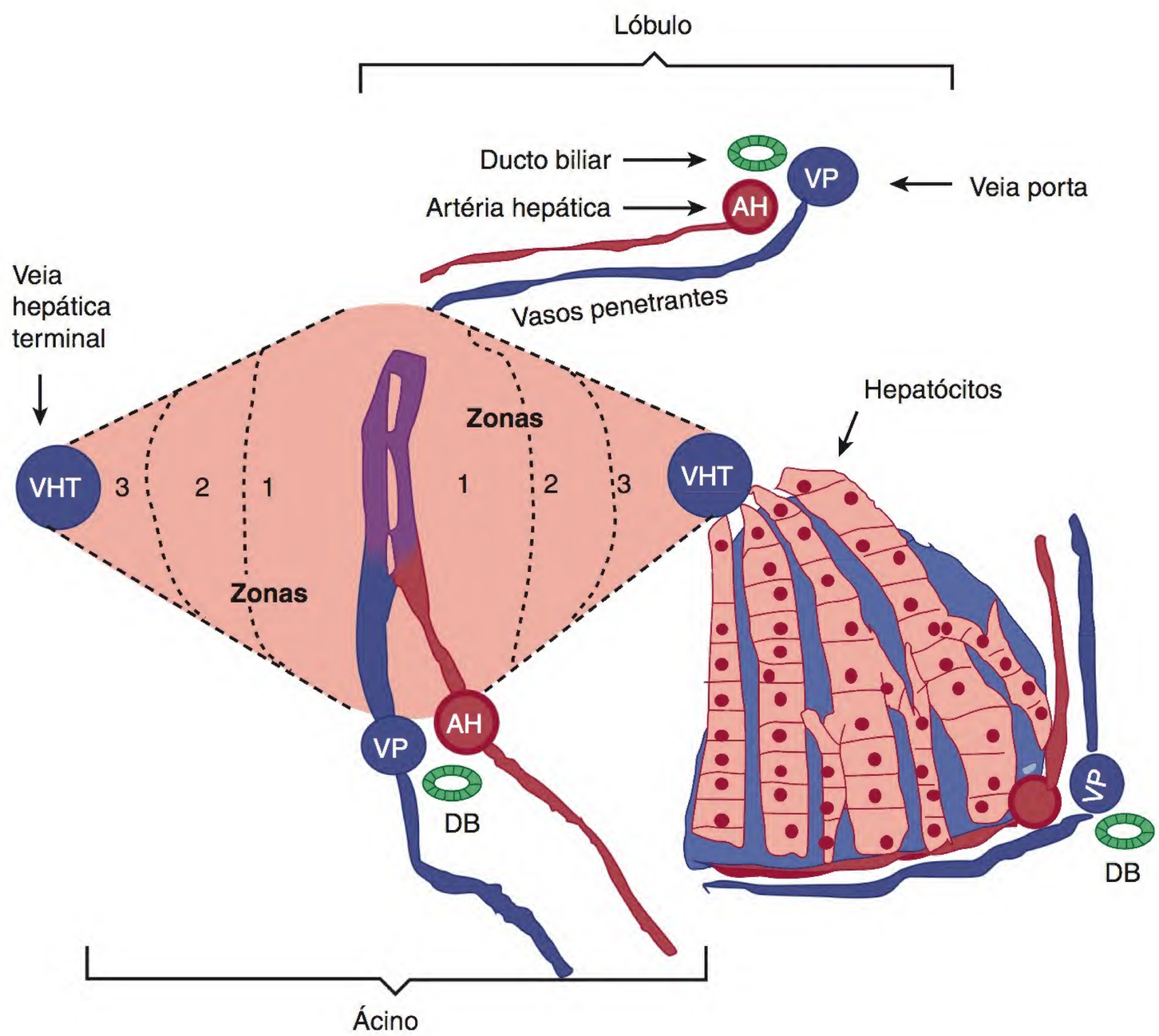


FIGURA 13.1 Esquema das unidades operacionais do fígado, o lóbulo clássico e o ácino. O lóbulo está centrado em torno da veia hepática terminal (veia central), por onde o sangue escoa para fora do lóbulo. O ácino tem como base os vasos penetrantes, nos quais o suprimento sanguíneo pela veia portal e pela artéria hepática flui pelo ácino por meio dos cordões de hepatócitos. As zonas 1, 2 e 3 do ácino representam regiões metabólicas que estão muito distantes do suprimento sanguíneo.

hepatócitos da zona 1, ricos em mitocôndrias, predominam a oxidação de ácidos graxos, a gliconeogênese e a detoxificação da amônia em ureia. Os gradientes de enzimas envolvidas na bioativação e detoxificação de xenobióticos são observados ao longo do ácino por técnicas de imuno-histoquímica. Gradientes importantes para xenobióticos são os níveis mais elevados de glutationa na zona 1 e de proteínas do citocromo P450 na zona 3, particularmente a isoenzima CYP2E1 induzível pelo etanol.

Os sinusoides hepáticos são os canais entre os cordões de hepatócitos por onde o sangue percola até a veia hepática terminal. Os três principais tipos de células do sinusoide são células endoteliais, células de Kupffer e células estreladas. Os sinusoides são revestidos por células endoteliais finas e descontínuas com numerosas frestas (ou poros) que permitem que moléculas menores do que 250 kDa atravessem o espaço intersticial entre o endotélio e os hepatócitos (conhecido como espaço de Disse). As numerosas frestas e a falta de membrana basal facilitam a troca de fluidos e moléculas entre os sinusoides e os hepatócitos, tais como a albumina, porém impedem o movimento de partículas maiores do que o quilomícrons remanescentes.

As células de Kupffer, os macrófagos residentes do fígado, constituem aproximadamente 80% dos macrófagos fixos no organismo. Situadas dentro do lúmen do sinusoide, as células de Kupffer digerem e degradam material particulado, são fontes de citocinas e podem agir como células antigênicas.

As células de Ito (também conhecidas como *células que acumulam lipídeos* e *células estreladas*) estão localizadas entre as células endoteliais e os hepatócitos. Elas sintetizam colágeno e constituem o principal local de armazenamento de vitamina A no organismo.

Formação da bile

A bile é um fluido amarelo que contém ácidos biliares, glutationa, fosfolipídeos, colesterol, bilirrubina e outros ânions orgânicos, proteínas, metais, íons e xenobióticos. A formação desse fluido é uma função especializada do fígado. A formação adequada da bile é essencial para a captação de nutrientes lipídicos procedentes do intestino delgado (Tab. 13.1), proteção do intestino delgado de danos oxidativos e excreção de compostos endógenos e exógenos. Os hepatócitos iniciam o processo transportando ácidos biliares, glutationa e outros solutos, incluindo xenobióticos e seus produtos de biotransformação, para o lúmen dos canalículos. As junções densas selam o lúmen canalicular dos materiais no sinusoide. Esses canalículos formam canais entre os hepatócitos que se ligam a uma série de canais cada vez mais largos ou ductos dentro do fígado. Os grandes ductos biliares extra-hepáticos juntam-se no ducto biliar comum. A bile pode ser armazenada e concentrada na vesícula biliar antes de sua liberação para o duodeno.

A principal força propulsora da formação da bile é o transporte ativo de sais biliares e outros constituintes para o lúmen

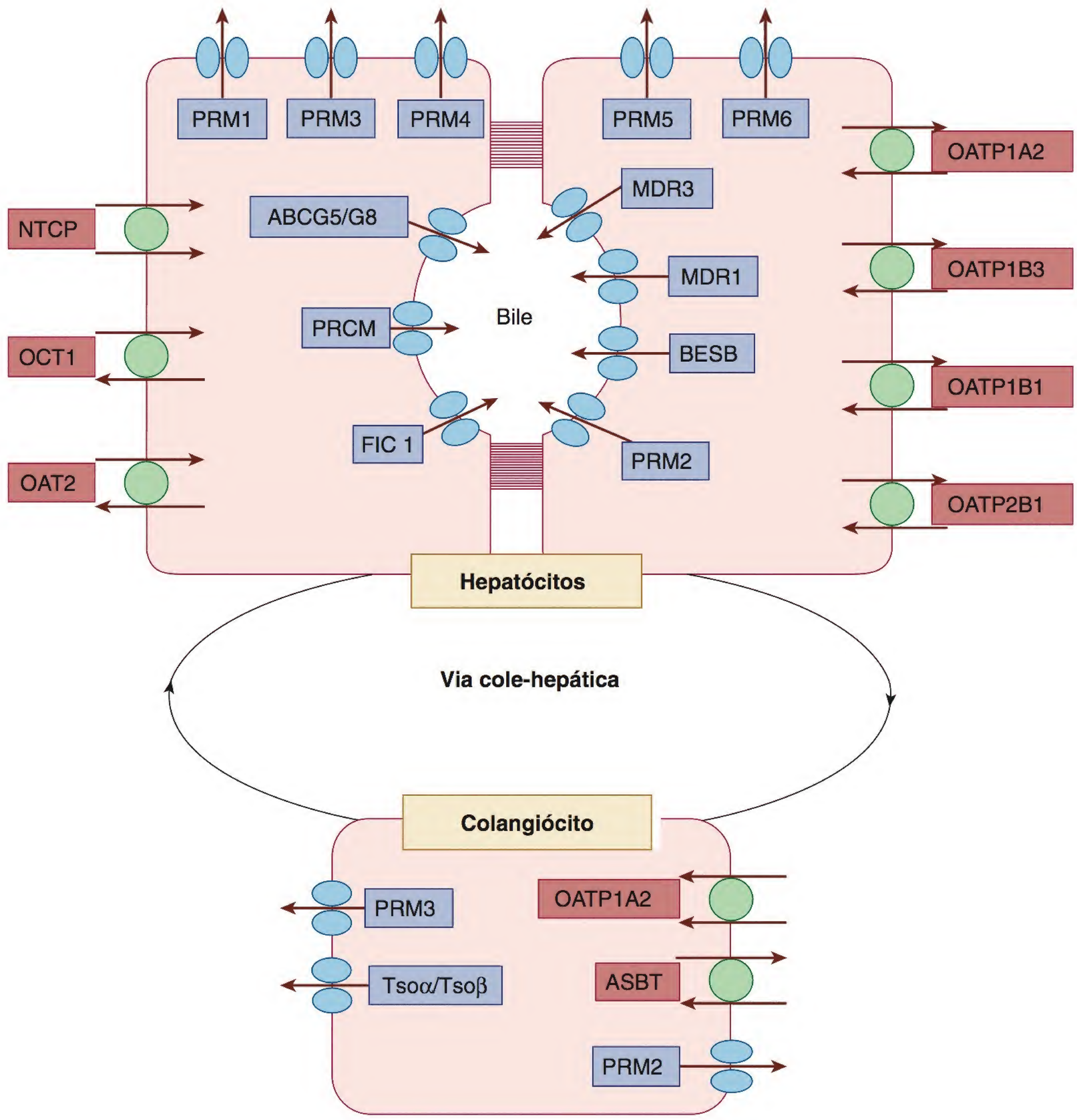


FIGURA 13.2 Transporte de proteínas em hepatócitos e colangiócitos humanos. Transportadores de efluxo (símbolos em azul): BSEP = bomba de transporte de sais biliares; RMD = proteína resistente a múltiplas drogas; MDR = proteína associada resistente a múltiplas drogas; ABCG5/8 = transportador do tipo ABC (ATP binding cassette) dependente de ATP; PRCM = proteína de resistência ao câncer de mama; Tsoα/Tsoβ = transportador de soluto orgânico alfa e beta. Transportadores de captação (símbolos em vermelho): TASB = transportador apical de sais biliares dependente de sódio; PCTS = polipeptídeo cotransportador de taurocolato de sódio; PTAO = polipeptídeo transportador de ânion orgânico; TCO = transportador de cátion orgânico; TAO = transportador de ânion orgânico. Os transportadores localizados na membrana sinusoidal captam solutos do sangue. Os transportadores localizados na membrana canalicular transportam solutos para o lúmen dos canalículos. Os transportadores de particular relevância para a secreção canalicular de xenobióticos e de seus metabólitos são o sistema transportador de múltiplos ânions orgânicos (TMAO) e a família das P-glicoproteínas resistentes a múltiplas drogas (MDR) (De Pauli-Magnus C, Meier PJ: Hepatobiliary transporters and drug-induced cholestasis. *Hepatology* 44:778-787, 2006. Reimpressa com permissão de John Wiley & Sons, Inc.).

canalicular. A maior parte dos ácidos biliares conjugados (conjugados de taurina e glicina) e alguns livres são transportados para dentro dos hepatócitos por transportadores dependentes de sódio. A captação de ácidos biliares conjugados ou livres não dependente de sódio é realizada pela família dos denominados polipeptídeos transportadores de ânions orgânicos (PTAOs). Os PTAOs também transportam numerosos fármacos e toxinas hepáticas. As substâncias catiônicas lipofílicas, os estrógenos e os lipídeos são transportados pela membrana canalicular pelas P-glicoproteínas resistentes a múltiplas drogas (MDR; *multiple-drug resistance*), uma das quais é exclusiva para fosfolipídeos. Os conjugados de glutationa, glicuronídeos e sulfatos são excretados pela proteína PRM2. Os diferentes transportadores são mostrados na Figura 13.2.

Os metais são excretados na bile por uma série de processos parcialmente conhecidos que incluem (1) captação pela membrana sinusoidal por difusão facilitada ou endocitose mediada por receptor; (2) acúmulo em proteínas ligantes ou lisossomos; e (3) secreção para os canalículos via lisossomos, um evento acoplado à glutationa ou a um transportador específico na membrana canalicular, como, por exemplo, o PRM2. A excreção biliar é importante na homeostase de metais, em especial cobre, manganês, cádmio, selênio, ouro, prata e arsênio. A inabilidade para excretar Cu para a bile é um problema central na doença de Wilson, uma

doença genética rara caracterizada pelo acúmulo de cobre no fígado e em outros tecidos.

A bile presente no lúmen canalicular é propulsionada em direção aos canais maiores por contrações do citoesqueleto pericanalicular, processo dinâmico e dependente de ATP. Os ductos biliares modificam a bile por absorção e secreção de solutos. As células epiteliais biliares também expressam enzimas das fases I e II, que podem contribuir para a biotransformação de toxicantes presentes na bile.

A secreção para dentro dos ductos biliares é normalmente, mas não sempre, um prelúdio para o *clearance* de toxicantes por meio da excreção fecal ou urinária. Exceção ocorre quando as substâncias são repetidamente transferidas para o lúmen intestinal via bile, absorvidas de maneira eficiente e redirecionadas para o fígado, via sangue portal, um processo conhecido como circulação êntero-hepática.

É mais provável que a diminuição da formação da bile associada a xenobióticos tenha consequências danosas em populações com secreção biliar mínima. Neonatos, por exemplo, exibem desenvolvimento retardado da síntese de sais biliares e da expressão de transportadores sinusoidal e canalicular. Eles são mais propensos a desenvolver icterícia quando tratados com fármacos que competem com a bilirrubina pelo *clearance* biliar.

FISIOPATOLOGIA DO FÍGADO

Mecanismos e tipos de danos hepáticos induzidos pela exposição a xenobióticos

A magnitude do dano causado por substâncias químicas sobre o fígado (Tab. 13.2) depende da intensidade da ação, do tipo de células afetadas e se a exposição foi aguda ou crônica.

TABELA 13.1 Tipos de dano hepatobiliar

Tipo de dano	Agentes tóxicos representativos
Fígado gorduroso	Amiodarona, CCl^4, etanol, fialuridina, tamoxifeno, ácido valproico
Morte do hepatócito	Paracetamol, álcool alílico, Cu, etanol, dimetilformamida
Resposta imune-mediada	Diclofenaco, etanol, halotano, ácido tienílico
Colestase canalicular	Clorpromazina, ciclosporina A, 1,1-dicloroetileno, estrógenos, Mn, faloidina
Dano no ducto biliar	α-naftilisotiocianato, amoxicilina, metileno dianilina, esporidesmina
Dano sinusoidal	Esteroides anabólicos, ciclofosfamida, microcistina, alcaloides pirrolizidínicos
Fibrose e cirrose	CCl^4, etanol, tioacetamida, vitamina A, cloreto de vinila
Tumores	Aflatoxina, andrógenos, arsênio, dióxido de tório, cloreto de vinila

Morte celular A morte celular de células hepáticas pode ocorrer por dois diferentes modos, necrose ou apoptose. A necrose é caracterizada por edema celular, quebra, desintegração nuclear e influxo de células inflamatórias. Quando a necrose ocorre nos hepatócitos, a quebra da membrana plasmática pode ser detectada bioquimicamente pela determinação plasmática ou sérica das enzimas citosólicas hepáticas, tais como alanina aminotransferase (ALT) ou γ-glutamiltranspeptidase (GGT). A apoptose é caracterizada por diminuição do volume celular, fragmentação nuclear, formação de corpos apoptóticos e falta de inflamação; é um evento celular único, com a principal finalidade de remover células não mais necessárias ao desenvolvimento ou eliminar células envelhecidas.

A morte do hepatócito pode ocorrer em um padrão focal, zonal ou panacinar (espalhado). A morte celular focal é caracterizada pela morte disseminada ao acaso de hepatócitos isolados ou em pequenos aglomerados. A necrose zonal é a morte do hepatócito em certas regiões funcionais. A necrose panacinar é a morte maciça de hepatócitos com poucos remanescentes.

Os mecanismos de danos induzidos por xenobióticos em células hepáticas incluem peroxidação lipídica, ligação a macromoléculas, lesão mitocondrial, ruptura do citoesqueleto e influxo maciço de cálcio.

Colestase canalicular Definida fisiologicamente como uma diminuição do volume de bile formada ou uma dificuldade em secretar solutos específicos na bile, a colestase é caracterizada bioquimicamente pela elevação de níveis séricos de substâncias normalmente concentradas na bile, sobretudo sais biliares e bilirrubina. Quando a excreção biliar da bilirrubina está diminuída, esse pigmento se acumula na pele e nos olhos, produzindo icterícia, e é eliminado na urina, tornando-a de coloração amarelo brilhante ou marrom-escura. A colestase induzida por substâncias químicas pode ser transitória ou crônica; quando é substancial, está associada a inchaço e morte celular e inflamação. Diferentes tipos de substâncias químicas causam colestase (Tab. 13.2).

Os mecanismos moleculares da colestase estão relacionados com a expressão e a função dos sistemas de transporte nas membranas basolateral e canalicular. O aumento da captação hepática, a diminuição da excreção biliar e o aumento da reabsorção biliar (via cole-hepática) de um fármaco podem contribuir para seu acúmulo no fígado.

A formação da bile é vulnerável aos efeitos dos xenobióticos sobre a integridade funcional dos transportadores sinusoidais, dos transportadores canaliculares, dos processos para transcitoses dependentes do citoesqueleto e fechamento contrátil do lúmen canalicular (Fig. 13.3). Alterações que enfraquecem as junções que formam a barreira estrutural entre o sangue e o lúmen canalicular permitem que solutos saiam do lúmen canalicular. Essas junções paracelulares proporcionam uma barreira com carga e tamanho para a difusão de solutos entre o sangue e o lúmen canalicular enquanto a água e pequenos íons se difundem através dessas junções. Uma substância que provoca o rompimento dessa junção é o α-naftilisotiocianato.

Substâncias que produzem colestase não necessariamente agem por um mecanismo único ou em um único local. A clorpromazina diminui a captação de ácidos biliares e a contratilidade canalicular. Alterações múltiplas têm sido bem documentadas com relação a estrógenos, um agente causal de colestase

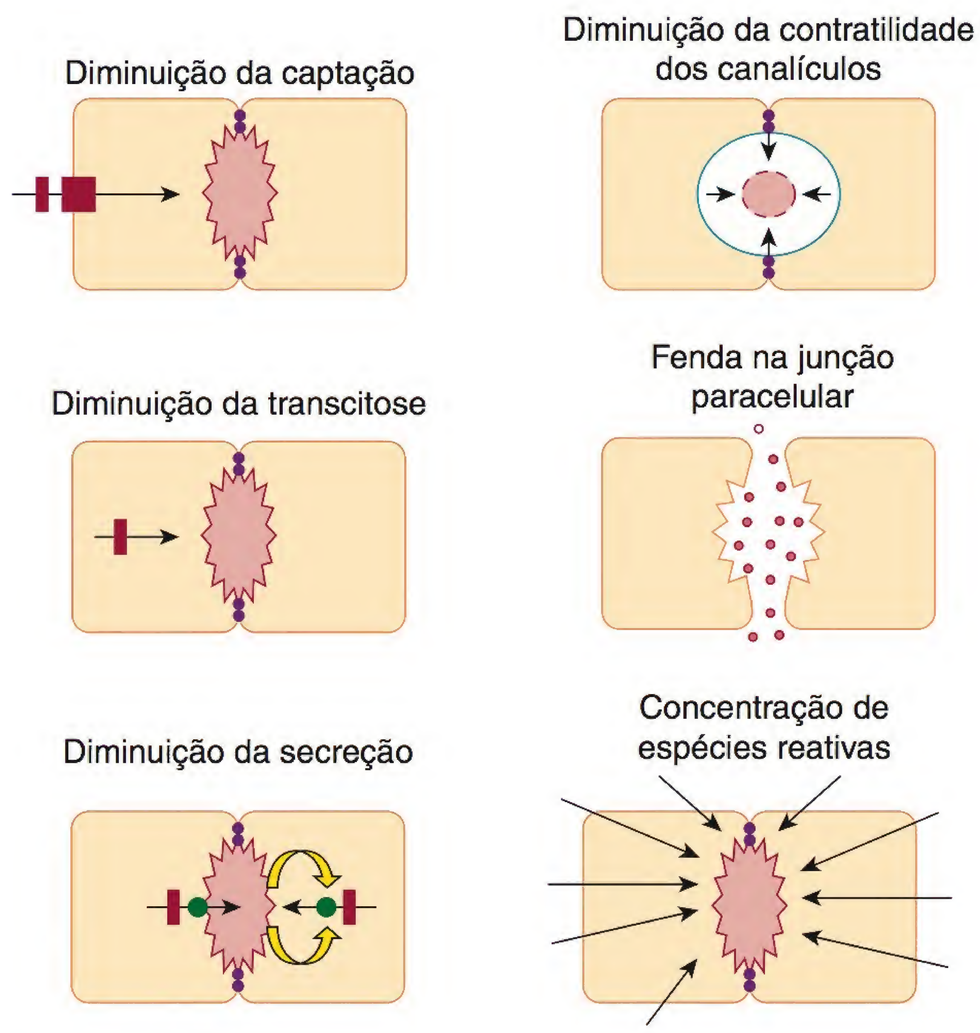


FIGURA 13.3 Esquema de seis mecanismos potenciais para a colestase envolvendo inibição da captação, diminuição da transcitose, diminuição da secreção, diminuição da contratilidade canalicular, escoamento pelas junções que selam o lúmen canalicular e consequências danosas de concentrações elevadas de substâncias tóxicas na área pericanalicular. Notar que a diminuição da secreção através da membrana canalicular pode resultar da inibição ou da retração do transportador fora da membrana canalicular.

canalicular reversível. Os estrógenos diminuem a captação de sais biliares por seus efeitos na membrana sinusoidal, que incluem uma diminuição da enzima Na^+, K^+-ATPase necessária para transporte de sais biliares dependente de Na através da membrana plasmática e alterações na sua composição lipídica. Na membrana canalicular, os estrógenos diminuem o transporte de conjugados de glutationa e reduzem o número de transportadores de sais biliares.

Um mecanismo adicional para a colestase canalicular é a concentração de formas reativas de substâncias químicas na área pericanalicular (Fig. 13.3). A maioria das substâncias químicas que causam colestase é excretada na bile. Por essa razão, as proteínas e os lipídeos na região canalicular entram em contato com uma elevada concentração dessas substâncias. Observações consistentes relacionadas a esse mecanismo de concentração têm sido reportadas para Mn, para conjugados de glutationa tioéter do 1,1-dicloroetileno e para esporidesmina.

Lesão do ducto biliar A lesão nos ductos biliares intra-hepáticos (que transportam bile do fígado para o trato gastrintestinal) é chamada de *colestase colangiodestrutiva*. Um parâmetro bioquímico muito utilizado na verificação de dano no ducto biliar é a elevação sérica pronunciada da atividade da fosfatase alcalina. Além disso, níveis séricos de sais biliares e de bilirrubina estão elevados, como observado na colestase canalicular. As lesões iniciais seguidas de uma exposição única a agentes colangiodestrutivos incluem edema do epitélio biliar, fragmentos de células danificadas dentro do lúmen do trato biliar e infiltração de células inflamatórias do trato portal. A exposição crônica a substâncias que causam destruição do ducto biliar pode provocar proliferação biliar e fibrose de modo semelhante à cirrose biliar. Um efeito raro é a perda dos ductos biliares, uma condição conhecida como *síndrome do desaparecimento de ductos biliares*. Essa condição tem sido reportada em pacientes submetidos a antibioticoterapia.

Dano sinusoidal A integridade funcional dos sinusoides (canais entre os hepatócitos por onde o sangue passa através do fígado) pode ser comprometida por dilatação ou bloqueio de seu lúmen ou por progressiva destruição de sua parede celular endotelial. O bloqueio poderá ocorrer quando hemácias são capturadas nos sinusoides. Tais alterações foram demonstradas após exposição a elevadas doses de paracetamol. Uma consequência do extensivo bloqueio sinusoidal é a ocorrência de oclusão hepática com células sanguíneas enquanto o restante do organismo fica depletado.

A destruição progressiva da parede endotelial do sinusoide provoca produção de fendas e, consequentemente, ruptura da integridade da barreira sinusoidal por rede de hemácias. Esses rompimentos dos sinusoides constituem os primeiros indícios da doença vascular conhecida como doença oclusiva venosa, que ocorre após exposição a alcaloides pirrolizidínicos, os quais podem ser encontrados em chás de algumas ervas e em agentes quimioterápicos.

Ruptura do citoesqueleto Faloidina e microcistina rompem a integridade do citoesqueleto do hepatócito por afetarem proteínas que são vitais para sua natureza dinâmica, prevenindo a separação de filamentos de actina. A captação de faloidina pelos hepatócitos leva a um acentuado entrelaçamento de actina do citoesqueleto, e o lúmen canalicular dilata-se.

A microcistina captada pelos hepatócitos leva a hiperfosforilação das proteínas do citoesqueleto. A fosforilação reversível das proteínas estrutural e motora é fundamental para a integridade dinâmica do citoesqueleto. Como demonstrado na Figura 13.4, a hiperfosforilação extensiva produzida por grandes quantidades de microcistina provoca deformação do hepatócito devido a um colapso do esqueleto microtubular de actina em um agregado central. Doses menores de microcistina interferem no transporte de vesículas por hiperfosforilarem a proteína de transporte dineína.

Esteatose hepática Essa alteração, também conhecida como esteatose, é um armazenamento de lipídeos no hepatócito. A esteatose pode ter como origem distúrbios do metabolismo de lipídeos; é uma resposta comum ante a exposição aguda a substâncias hepatotóxicas. Frequentemente, a esteatose induzida por xenobióticos é reversível e não provoca morte dos hepatócitos. O etanol é o xenobiótico de relevância que causa esteatose em humanos. Os inibidores metabólicos etionina, puromicina e cicloheximida causam acúmulo de gordura sem causar morte celular. Inúmeras condições, além da exposição a toxicantes, como resistência à insulina devido a obesidade, estão associadas a acúmulo de gordura hepática.

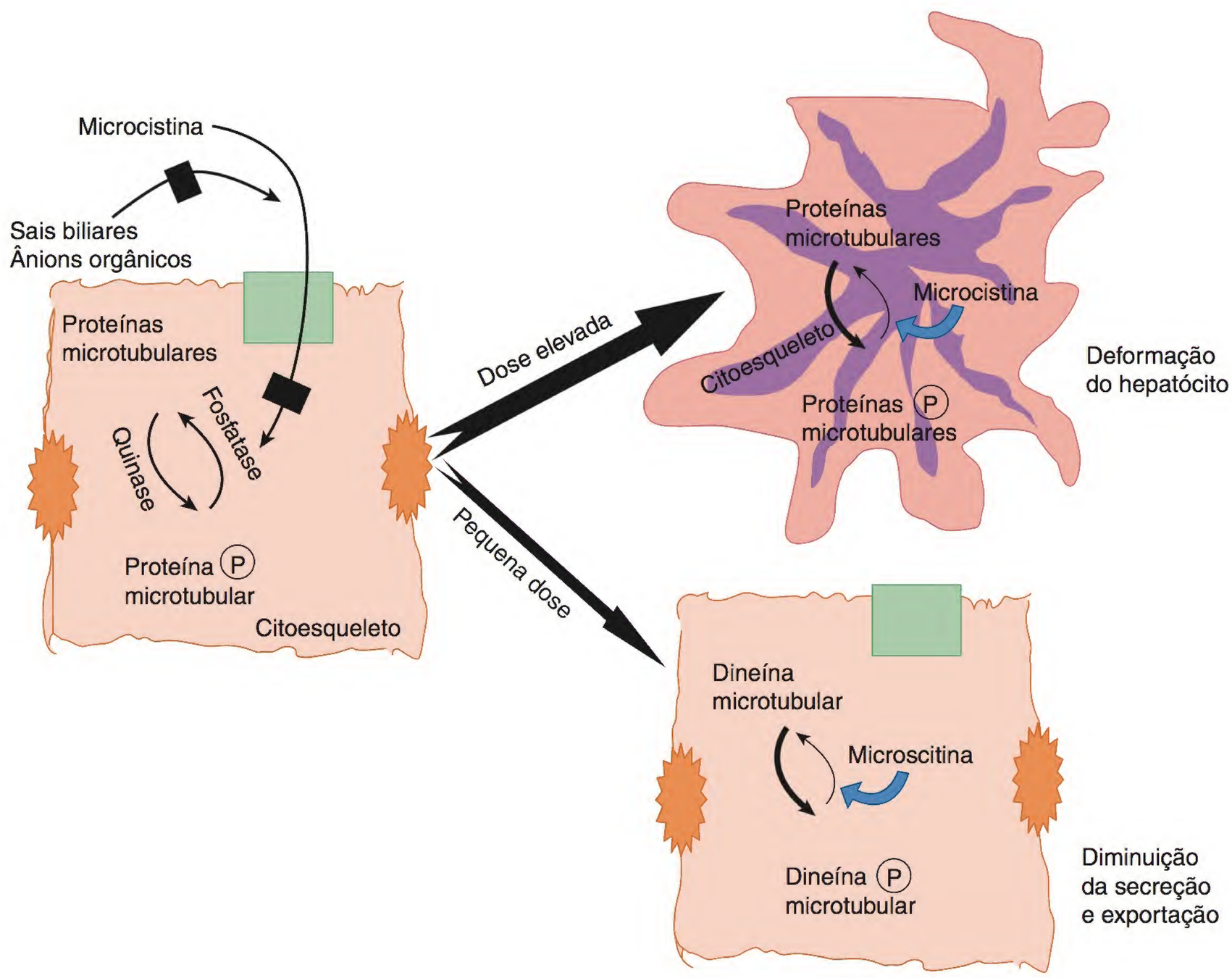


FIGURA 13.4 Esquema de eventos relacionados ao mecanismo pelo qual a microcistina danifica a integridade estrutural e funcional dos hepatócitos. A microcistina é captada pelo hepatócito exclusivamente por um transportador sinusoidal que pode ser inibido pelos sais biliares e ânions orgânicos. A inibição das fosfatases pela microcistina provoca hiperfosforilação das proteínas do citoesqueleto cujas funções dinâmicas são dependentes da fosforilação reversível. A extensiva hiperfosforilação das proteínas microtubulares provoca colapso dos filamentos de actina microtubular em um agregado central produzindo deformação grosseira dos hepatócitos. Além disso, alterações discretas nas atividades de transporte mediadas por microtúbulos têm sido associadas a hiperfosforilação da dineína, uma proteína motora do citoesqueleto.

Fibrose e cirrose A fibrose hepática é caracterizada pelo acúmulo de grande quantidade de fibras colágenas em resposta a um dano direto ou a uma inflamação. Em exposições crônicas a substâncias químicas, as células hepáticas destruídas são substituídas por tecido fibroso cicatricial. Com a continuidade da deposição do colágeno, a arquitetura do fígado é destruída. Quando o fígado fica subdividido por tecido fibroso rodeando nódulos de hepatócitos em regeneração, designa-se esse quadro como cirrose, e o fígado passa a ter capacidade mínima de realizar suas funções essenciais. A cirrose não é reversível, tem um prognóstico ruim quanto à sobrevivência e é, em geral, o resultado de exposições repetidas a substâncias químicas.

Tumores As neoplasias induzidas quimicamente podem envolver tumores derivados dos hepatócitos, das células do ducto biliar ou de angiossarcomas derivados de células de revestimento dos sinusoides. O câncer hepatocelular tem sido associado ao uso de andrógenos e ao consumo de alimentos com teores elevados de aflatoxinas.

O torotrast (dióxido de tório radioativo usado como meio de contraste em radiologia) acumula-se nas células de Kupffer, os macrófagos residentes do sinusoide, e emite radioatividade por meio de sua longa meia-vida, aumentando, dessa maneira, o risco de desenvolvimento de câncer de bexiga em 14 vezes e de câncer de fígado acima de 100 vezes. Múltiplos tipos de tumores hepáticos são associados a exposição a dióxido de tório.

Fatores relacionados com dano hepático induzido por xenobióticos

Por que o fígado é o órgão-alvo para tantas substâncias químicas e de diversas estruturas? Por que muitos toxicantes causam preferencialmente dano em um tipo de célula hepática? O nosso entendimento sobre essas questões fundamentais é incompleto. A influência de muitos fatores é, obviamente, de grande importância (Tab. 13.3). A localização e os processos especializados de captação e secreção biliar condicionam níveis mais elevados de exposição no fígado do que em outros tecidos do organismo e em certos tipos de células hepáticas. A elevada capacidade para reações de bioativação influencia a taxa de exposição a toxicantes. Eventos subsequentes na patogênese parecem ser influenciados pelas respostas das células sinusoidais e do sistema imune.

TABELA 13.3 Fatores que condicionam uma lesão hepática em local específico e agentes tóxicos representativos

Local	Agente tóxico	Fator condicionante
Hepatócitos zona 1 (*versus* zona 3)	Fe (dose elevada)	Captação preferencial e níveis de O_2 elevados
	Álcool alílico	Níveis de O_2 mais elevados para bioativação dependente de O_2
Hepatócitos zona 3 (*versus* zona 1)	CCl_4	Concentração maior da isoenzima P450 para bioativação
	Paracetamol	Níveis maiores de isoenzima P450 para bioativação e menos GSH para detoxificação
	Etanol	Desequilíbrio mais hipórico e maior na bioativação/reações de desintoxicação
Células do ducto biliar	Metileno dianilina, esporidesmina	Exposição a elevadas concentrações de metabólitos reativos na bile
Endotélio sinusoidal (*versus* hepatócitos)	Ciclofosfamida, monocrotalina	Elevada vulnerabilidade a metabólitos tóxicos e menor habilidade para manter níveis de glutationa
Células de Kupffer	Endotoxina, $GdCl_3$	Captação preferencial e ativação
Células estreladas	Vitamina A	Local preferencial para armazenamento e posterior ingurgitamento
	Etanol (uso crônico)	Ativação e transformação em células sintetizadoras de colágeno

Um número de sistemas experimentais é de grande utilidade para definir fatores e mecanismos de dano hepático. Os sistemas *in vitro* usando fígado perfundido isolado, células hepáticas isoladas e frações de células permitem observações em vários níveis de complexidade sem a influência de outros fatores. Modelos usando coculturas ou agentes que inativam um dado tipo de célula podem documentar a contribuição e interações entre os tipos celulares. Modelos animais são essenciais para o estabelecimento da progressão do dano e das respostas em exposições crônicas. A aplicação de transfecção ou repressão de genes atenua alguns desses problemas de interpretação. Animais nocauteados são modelos muito usados para estudo dos aspectos complexos da toxicidade hepática.

Captação e concentração Xenobióticos lipofílicos rapidamente se difundem para dentro dos hepatócitos porque o epitélio poroso dos sinusoides facilita um estreito contato entre as moléculas circulantes e a membrana dos hepatócitos. O fígado rico em membranas concentra as substâncias lipofílicas. Outras substâncias são rapidamente extraídas do sangue porque constituem substratos para os transportadores sinusoidais. A faloidina (produzida por cogumelo) e a microcistina (produto de alga verde-azulada) são exemplos ilustrativos de hepatotoxinas cujo órgão-alvo é o fígado como uma consequência de extensiva captação nos hepatócitos por transportadores sinusoidais. A hepatotoxicidade da vitamina A inicialmente afeta as células estreladas dos sinusoides, que ativamente captam e armazenam essa vitamina, e a toxicidade do cádmio torna-se manifesta quando as células excedem sua capacidade de complexação com a metalotioneína, a proteína ligante de metal.

Os hepatócitos contribuem para a homeostase do ferro por captarem esse metal essencial dos sinusoides por um processo mediado por receptor e pela manutenção de reserva do ferro na proteína ferritina. A toxicidade aguda pelo ferro é frequentemente mais observada em crianças pela ingestão acidental de comprimidos da substância. A citotoxicidade do ferro livre é atribuída a sua função como um doador de elétrons para a formação de espécies reativas de oxigênio, que iniciam o estresse oxidativo destrutivo. O acúmulo de ferro superior a sua capacidade de armazenamento na ferritina ocasiona dano hepático. Seu acúmulo em exposição crônica, como nos casos de hemocromatose, está associado a várias doenças hepáticas, inclusive a câncer.

Bioativação e detoxificação Os hepatócitos têm elevada atividade das enzimas de fase I que frequentemente convertem os xenobióticos em metabólitos eletrofílicos reativos. Os hepatócitos também têm grande quantidade de enzimas de fase II que adicionam um grupo polar a uma molécula e, em consequência, favorecem sua remoção do organismo. Em geral, o balanço entre as reações de fase I e II determina se o metabólito ativo inicia a lesão celular ou será seguramente detoxificado.

Paracetamol Um dos analgésicos mais amplamente usados, o paracetamol é um fármaco seguro quando usado em doses terapêuticas. A superdosagem pode causar toxicidade severa, e certos fatores (dieta, medicamentos, diabetes e obesidade) podem aumentar a toxicidade hepática. Doses terapêuticas de paracetamol não são hepatotóxicas porque a maioria do fármaco sofre glicuronidação ou sulfatação com pouca bioativação da molécula. A lesão após exposição a doses elevadas de paracetamol é favoreci-

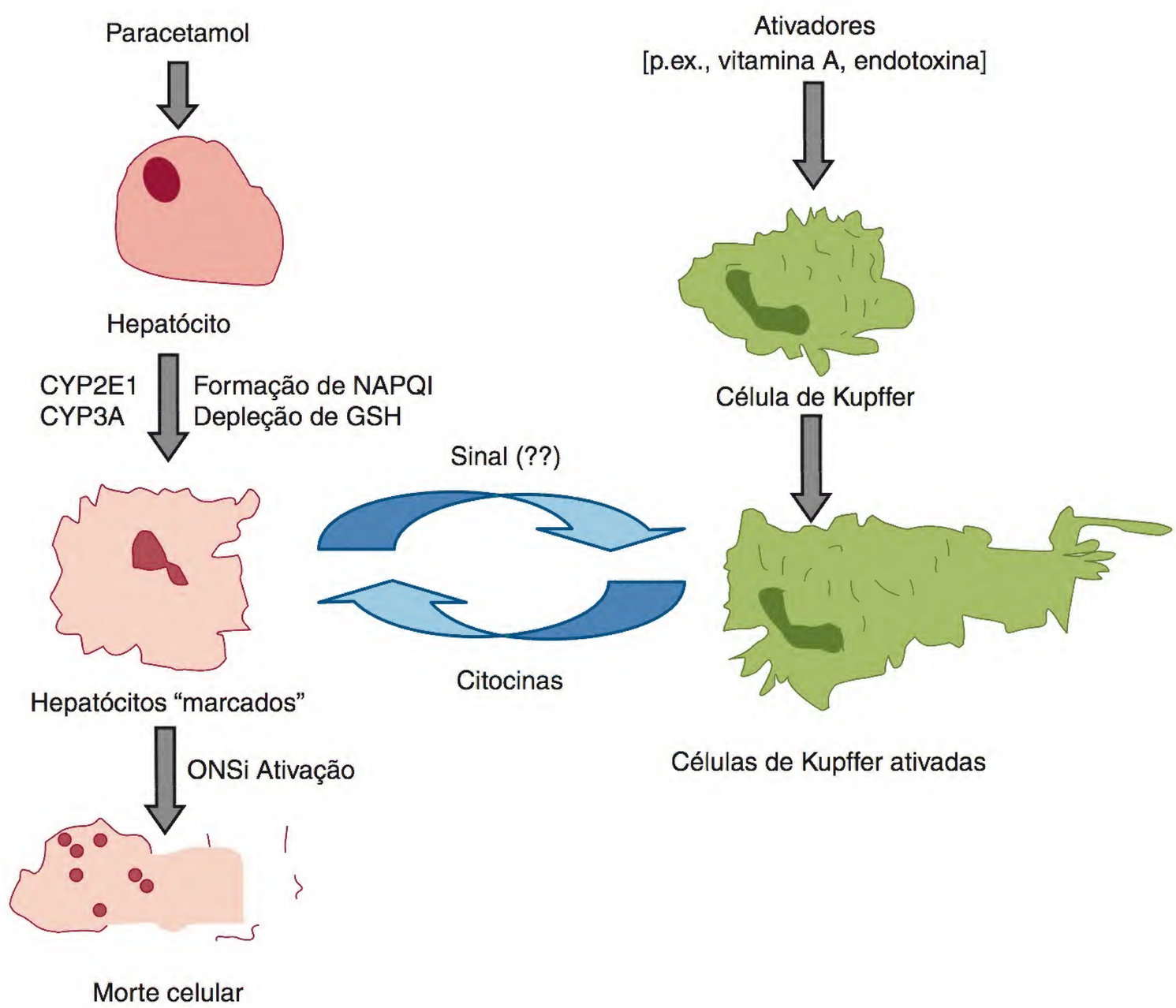


FIGURA 13.5 Esquema de eventos-chave na bioativação e hepatotoxicidade do paracetamol. A bioativação do paracetamol pelas isoenzimas do citocromo P450 leva à formação do intermediário reativo *N*-acetil-*p*-benzoquinona (NAPQI), que pode depletar glutationa ou formar aductos covalentes com proteínas hepáticas. Observações experimentais sugerem que tais efeitos "carimbam" os hepatócitos para liberação de citocinas pelas células de Kupffer ativadas. A progressão para morte celular parece envolver ativação da óxido nítrico sintetase induzível (ONSi) e outros processos que produzem espécies reativas de nitrogênio e estresse oxidativo. Agentes que ativam as células de Kupffer exarcebam o dano hepático. A troca de sinais entre os aductos e as células de Kupffer ativadas parece ser um fator na toxicidade aguda produzida por muitos compostos que danificam os hepatócitos.

da pelo jejum e por outras condições que depletam a glutationa hepática, contudo é minimizada por tratamento com *N*-acetilcisteína, a qual aumenta a síntese de glutationa pelo hepatócito.

Os alcoolistas são vulneráveis aos efeitos hepatotóxicos do paracetamol em doses dentro da faixa terapêutica. O fato foi atribuído ao aumento da velocidade de bioativação do fármaco ao intermediário *N*-acetil-*p*-benzoquinona imina (NAPQI) pela indução da enzima CYP2E1, intermediada pelo etanol (Fig. 13.5). Indutores da CYP3A, na qual estão incluídos muitos xenobióticos, potencializam a toxicidade do paracetamol.

Uma teoria, a *two hit* (modelo de 2 passos), para explicar a hepatotoxicidade do paracetamol, sugere a formação de aductos entre o metabólito ativo e macromoléculas, e que essa adução "marca" os hepatócitos para posteriores danos destrutivos por espécies reativas de nitrogênio (p. ex., peroxinitrito) (Fig. 13.5).

Etanol As condições genéticas de grande relevância clínica para o balanço bioativação/detoxificação são o polimorfismo das enzimas que realizam o metabolismo do etanol em duas etapas. O etanol é bioativado pela álcool desidrogenase a acetaldeído, um aldeído reativo, que é subsequentemente biotransformado em acetato pela aldeído desidrogenase. Ambas enzimas exibem polimorfismo genético que resulta em concentrações mais elevadas de acetaldeído – uma isoenzima da álcool desidrogenase de "rápida" atividade [ALD2*2] e uma isoenzima mitocondrial da aldeído desidrogenase fisiologicamente "lenta" [ALDH2*2]. Aproximadamente 50% da população asiática, exceto os brancos, têm a aldeído desidrogenase lenta; o consumo de álcool pela população com esse polimorfismo lento provoca sintomas desconfortáveis de rubor e náuseas devido aos elevados níveis sistêmicos de acetaldeído.

Citocromo P450 A bioativação dependente do citocromo P450 como um mecanismo de hepatoxicidade é importante mesmo para substâncias químicas reconhecidamente *seguras* porque algumas isoenzimas do P450 geram espécies reativas de oxigênio durante as reações de biotransformação, as quais ocasionam dano hepático. A geração de espécies reativas de oxigênio e outros radicais livres pela CYP2E1 contribui para a etiologia do estágio final do dano hepático.

Além da CYP2E1, a isoenzima CYP3A tem sido associada à hepatotoxicidade causada pela planta medicinal *Teucrium chamaedrys* L. Estudos experimentais sistemáticos demonstraram um papel predominante da CYP3A na bioativação dos constituintes da planta a substâncias eletrofílicas reativas.

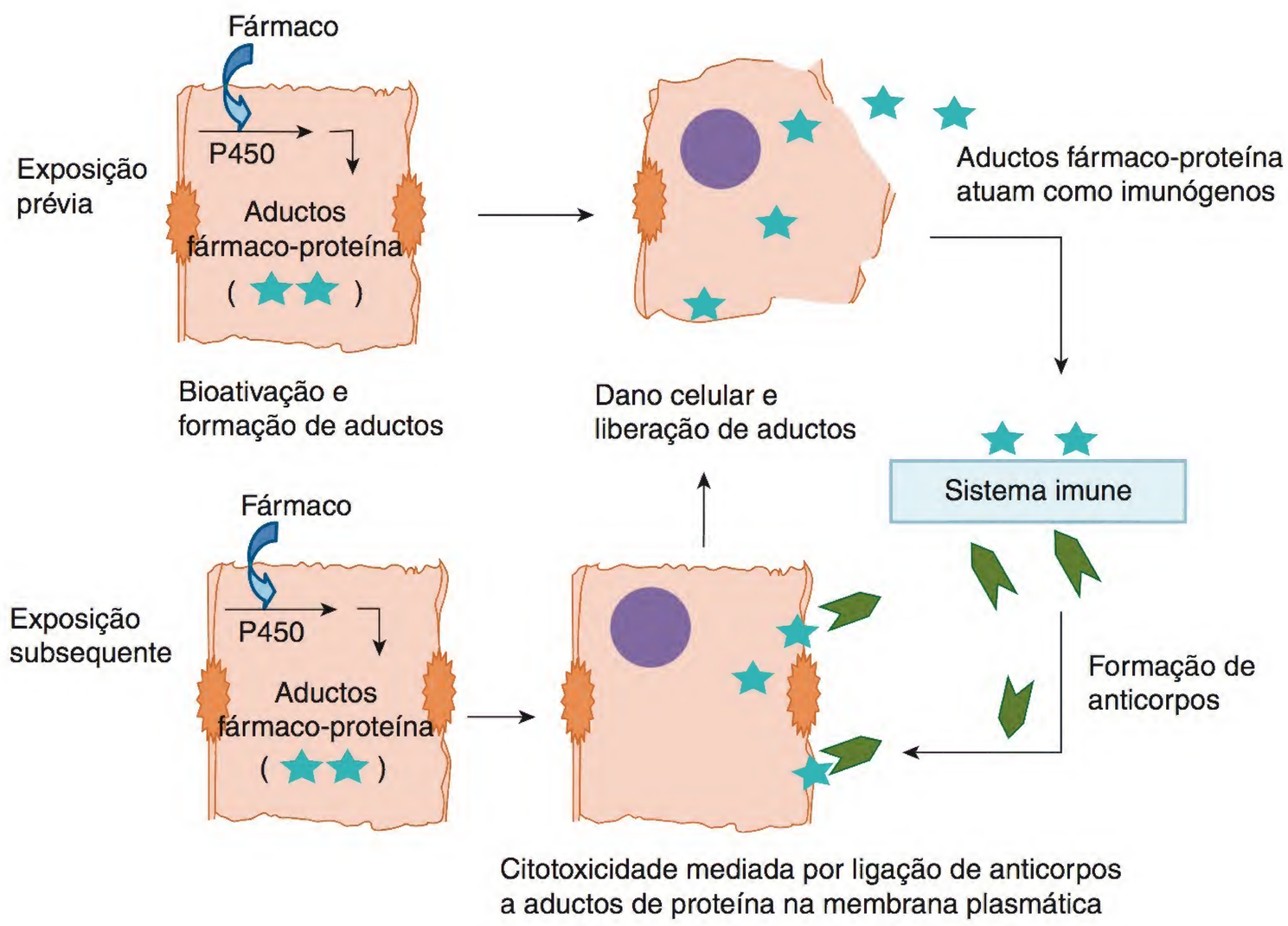


FIGURA 13.6 Esquema de eventos propostos que causariam toxicidade hepática imunomediada após exposição repetida a um xenobiótico pela produção de aductos fármaco-proteína.

Tetracloreto de carbono A conversão do CCl_4 a $\bullet CCl_3$ dependente do citocromo P450 e, posteriormente, a $CCl_3OO\bullet$ é o exemplo clássico de bioativação de xenobióticos em que um radical livre é formado iniciando um dano oxidativo. Condições nas quais o citocromo P450 é depletado levam a diminuição do dano hepático quando ocorre exposição a CCl_4.

Regeneração O fígado tem elevada capacidade de restaurar perda tecidual e função por meio da regeneração. A perda de hepatócitos devido a hepatectomia ou a um dano celular dispara a proliferação de todas as células hepáticas maduras. Esse processo é capaz de restaurar a massa original do fígado. Entretanto, a regeneração não é somente uma resposta à morte celular, mas um processo que determina ativamente o dano final após exposição a substâncias químicas com toxicidade hepática. A estimulação de reparo por meio da exposição a uma dose moderada de um toxicante atenua o dano tecidual em uma futura exposição a uma dose elevada da mesma substância química. O reparo tecidual segue a relação dose-resposta até um limite em que a severidade do dano inibe a proliferação de células.

Inflamação e respostas imunes A migração de neutrófilos, linfócitos e outras células inflamatórias para as regiões lesadas do fígado é uma característica bem reconhecida da hepatotoxicidade produzida por muitas substâncias químicas. De fato, o termo *hepatite* refere-se à lesão do hepatócito por qualquer dano em que a morte celular está associada com um influxo de células inflamatórias.

O influxo de células inflamatórias, em geral, facilita a remoção benéfica de fragmentos de células hepáticas lesadas. Entretanto, efeitos prejudiciais podem ocorrer, porque os neutrófilos ativados liberam proteases citotóxicas e espécies reativas de oxigênio para o meio.

As respostas imunes são fatores a serem considerados na toxicidade hepática; são observadas ocasionalmente após exposições repetidas a substâncias químicas, normalmente fármacos. Indivíduos que desenvolvem respostas não frequentes, não previsíveis, são considerados hipersensíveis. Considera-se plausível uma resposta imune quando o problema desaparece após a interrupção da terapia e volta a ocorrer repentinamente com fármacos assemelhados ou com a restauração da terapia de origem. Embora o conceito seja normalmente aceito, as evidências para resposta imune mediada são disponíveis somente para etanol, halotanos e outros poucos toxicantes. A Figura 13.6 descreve as características por meio das quais os aductos de proteínas hepáticas poderiam se tornar antígenos e estimular a produção de anticorpos. Se, em nova exposição, mais aductos são formados, as células com esses aductos poderiam ser atacadas por anticorpos sistêmicos (é provável que evoquem resposta imune).

Foi observada lesão mediada por resposta imune em indivíduos medicados com diclofenaco (anti-inflamatório não esteroide). A bioativação hepática do diclofenaco provoca a formação de múltiplos aductos, que podem se localizar em proteínas da membrana do hepatócito em que o reconhecimento pelos anticorpos é viável.

Ativação de células sinusoidais Um conjunto de quatro tipos de observações demonstra o papel da ativação da célula sinusoidal (célula imune presente no sinusoide hepático) como fator primário ou secundário em lesão induzida por substâncias químicas:

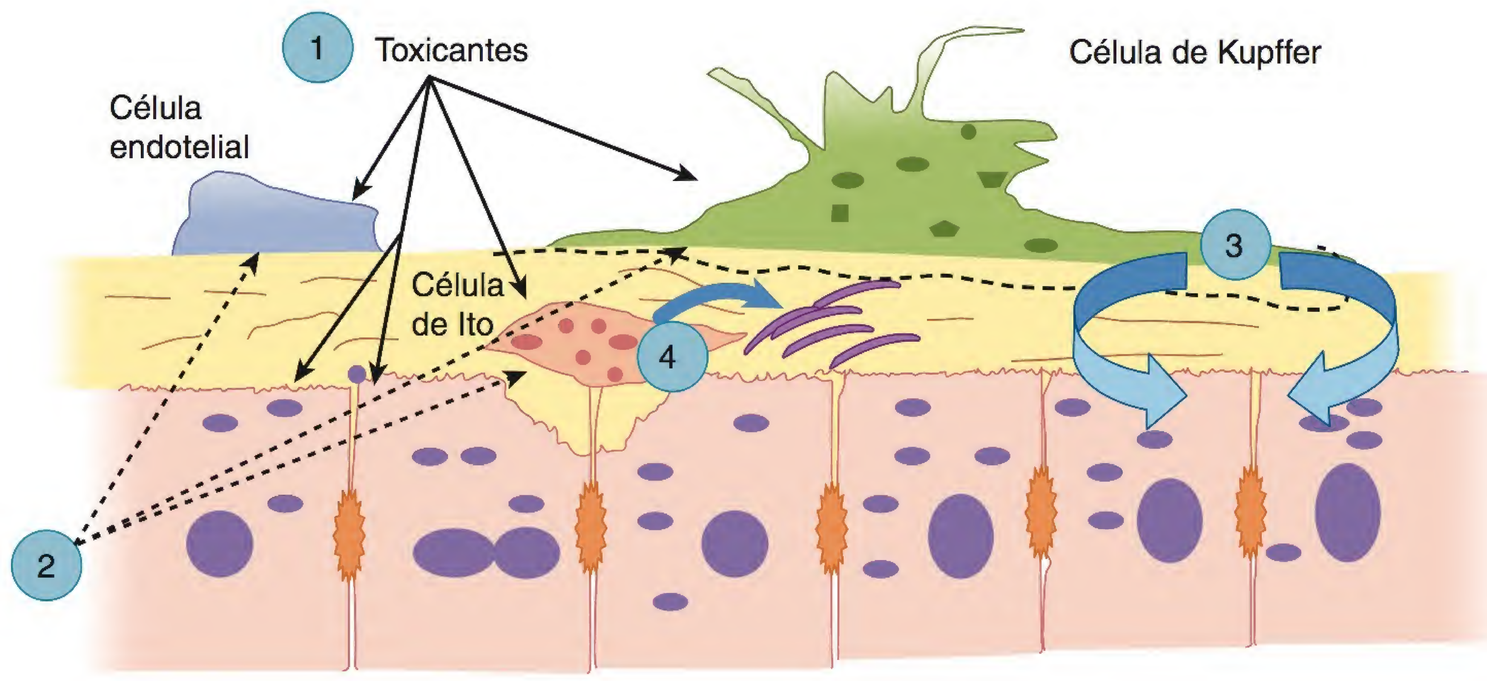


FIGURA 13.7 Esquema retratando a complexa cascata de interações evocadas por xenobióticos entre hepatócitos e células sinusoidais. As células sinusoidais respondem à presença de xenobióticos produzindo lesão ou ativação. Um panorama envolveria: 1) lesão no hepatócito; 2) envio de sinais do hepatócito lesionado às células de Kupffer e às células estreladas; seguidos por 3) liberação de citotoxinas pelas células de Kupffer; e 4) secreção de colágeno pelas células estreladas. A ativação das células de Kupffer é um fator importante no progresso da lesão evocada por muitos xenobióticos. A estimulação da produção de colágeno pelas células estreladas ativadas é um mecanismo proposto para a fibrose induzida por xenobióticos.

1. As células de Kupffer e as células de Ito exibem morfologia ativada após exposição aguda e crônica a hepatotoxicantes.
2. Pré-tratamentos que ativam ou inativam as células de Kupffer modulam a extensão do dano produzido pelos toxicantes clássicos. A ativação das células de Kupffer pela vitamina A aumenta drasticamente a toxicidade aguda do tetracloreto de carbono; esse aumento não ocorre quando animais recebem também um inativador das células de Kupffer.
3. As células de Kupffer ativadas secretam quantidades apreciáveis de citotoxinas solúveis, incluindo espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio.
4. Exposição aguda ou crônica a álcool direta ou indiretamente afeta as células sinusoidais.

A Figura 13.7 resume as informações apresentadas nesta e em outras seções deste capítulo a respeito da multiplicidade de interações induzidas por substâncias químicas com ou entre várias células hepáticas. O efeito sobre um dado tipo de célula pode ser direto ou pode resultar de uma cascata de sinais e de respostas entre os vários tipos de células.

Lesão mitocondrial O DNA mitocondrial codifica as inúmeras proteínas da cadeia de transporte de elétrons da mitocôndria. Fármacos análogos a nucleosídeos usados na terapia de hepatite B e aids causam dano no DNA mitocondrial diretamente, quando a incorporação da base análoga conduz a um código alterado ou finaliza de maneira antecipada a cadeia de polipeptídeos. O dano mitocondrial hepático severo produzido pela fialuridina, um nucleosídeo análogo, é atribuído a sua maior afinidade pela polimerase responsável pela síntese de DNA mitocondrial do que pela polimerase responsável pela síntese de DNA nuclear. O DNA mitocondrial é, também, mais vulnerável ao desarranjo (mutação) devido a sua limitada capacidade de reparo.

O abuso de álcool causa dano mitocondrial pelo desequilíbrio da relação bioativação/detoxificação para etanol, levando a um acúmulo de seu metabólito ativo, o acetaldeído, dentro da mitocôndria, uma vez que a aldeído desidrogenase mitocondrial é a principal enzima envolvida na detoxificação do acetaldeído. A bioativação de grandes quantidades de etanol pela álcool desidrogenase impede a reação de detoxificação, uma vez que as duas enzimas requerem o cofator comum NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo) que está depletado. Qualquer tipo de alteração induzida pelo etanol que aumente a permeabilidade da cadeia de transporte mitocondrial levaria a um aumento da liberação de espécies reativas de oxigênio capaz de atacar os constituintes circundantes da mitocôndria.

Lesão hepática idiossincrática As reações idiossincráticas relacionadas com a exposição a fármacos são um evento adverso raro mas potencialmente grave, imprevisível, não estão relacio-

TABELA 13.4 Exemplos de fármacos com hepatotoxicidade idiossincrática conhecida

A. Reações idiossincráticas imunomediadas (alérgicas)
• . Diclofenaco (analgésico)
• . Halotano (anestésico)
• . Nitrofurantoína (antibiótico)
• . Fenitoína (anticonvulsivante)
• . Ácido tienílico (diurético)
B. Reações idiossincráticas não imunomediadas (não alérgicas)
• . Amiodarona (antiarrítmico)
• . Bromofenato (analgésico) – retirado do comércio
• . Diclofenaco (analgésico)
• . Dissulfiram (alcoolismo)
• . Isoniazida (antituberculose)
• . Cetoconazol (antifúngico)
• . Rifampicina (antimicrobiano)
• . Troglitazona (hipoglicemiante) – retirado do comércio
• . Valproato (anticonvulsivante)

nadas à dose e ocorrem em uma pequena porcentagem de pacientes expostos a um determinado fármaco ou a outras substâncias químicas. Tais reações são, entretanto, a principal causa para a reprovação de fármacos submetidos a ensaios clínicos e a principal razão para notificação ao sistema de farmacovigilância, indicação de uso restrito ou mesmo suspensão comercial de medicamentos (Tab. 13.4). Um dano hepático idiossincrático também pode ser observado após a exposição a medicamentos fitoterápicos e suplementos alimentares. Visto que esse tipo de evento é de ocorrência rara para a maioria dos fármacos, é provável que uma combinação de genes imperfeitos e eventos adversos necessite estar presente ao mesmo tempo em um indivíduo para alavancar um dano hepático grave. A análise detalhada do genoma de pacientes que apresentam respostas idiossincráticas em exposição a fármacos pode fornecer uma compreensão adicional sobre a maneira como a expressão gênica pode retratar, em um primeiro momento, um paciente suscetível.

DIREÇÕES FUTURAS

O progresso continuado a respeito do conhecimento da hepatotoxicidade induzida por fármacos e substâncias químicas dependerá do uso de relevantes modelos *in vitro* e *in vivo* incluindo uso de hepatócitos e análise de tecido hepático humano. As investigações mecanísticas tradicionais em combinação com abordagens genômicas e proteômicas representam o grande potencial na produção de importantes novos conhecimentos dos mecanismos patológicos. O progresso no conhecimento da resposta do fígado quando da exposição a agentes tóxicos conhecidos e de outras condições adversas auxilia no desenvolvimento de terapias não somente para limitar e reverter danos agudos e crônicos, mas também para prever o potencial hepatotóxico de novos fármacos e de novas substâncias químicas.

REFERÊNCIAS

Arias IM, Wolkoff A, Boyer JL, et al (eds): Th e Liver: Biology and Pathobiology, 5th ed. Hoboken, NJ: John Wiley, 2009.

Boyer TD, Wright TL, Manns MP, Zakim D (eds): Zakim and Boyer's Hepatology: A Textbook of Liver Disease, 5th ed. Philadelphia: Saunders and Elsevier, 2006.

Crawford JM: Th e Liver and the Biliary Tract. In Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC (eds): Robbins and Cotran: Pathologic Basis of Disease, 8th ed. Philadelphia: Saunders, 2010.

Kaplowitz N, Deleve LD: Drug-induced Liver Disease. New York: Marcel Dekker, 2003.

Sahu S: Hepatotoxicity: from Genomics to In Vitro and In Vivo Models. Hoboken, NJ: John Wiley, 2008.

QUESTÕES

1. A diminuição da função hepática pode ter numerosas consequências negativas. Qual das condições a seguir NÃO é causada pela função hepática diminuída?
   a. Icterícia
   b. Hipercolesterolemia
   c. Hiperamonemia
   d. Hiperglicemia
   e. Hipoalbunemia

2. As seguintes afirmações em relação ao fígado são verdadeiras, EXCETO:
   a. O principal papel do fígado é manter a homeostase metabólica do organismo.
   b. O fígado entra em contato com nutrientes ingeridos antes que o coração o faça.
   c. A tríade hepática contém um ramo da veia hepática portal, um ramo da artéria hepática e um ducto biliar.
   d. O fígado produz e armazena bile.
   e. Os grandes poros dos sinusoides hepáticos facilitam a troca de materiais entre o sinusoide e o hepatócito.

3. A ativação de qual dos seguintes tipos de células pode resultar em aumento da secreção de fibras de colágeno, levando à cirrose?
   a. Hepatócito
   b. Célula de Ito
   c. Célula de Kupffer
   d. Célula endotelial
   e. Célula β

4. A doença de Wilson é uma doença genética rara caracterizada pela falência em eliminar qual dos seguintes metais a seguir?
   a. Ferro
   b. Zinco
   c. Prata
   d. Chumbo
   e. Cobre

5. Qual dos seguintes eventos NÃO é uma característica da apoptose?
   a. Inchaço celular
   b. Fragmentação nuclear
   c. Falta de inflamação
   d. Morte programada
   e. Condensação de cromatina

6. Um paciente que sofre de colestase canalicular NÃO exibiria qual dos seguintes sinais?
   a. Aumento dos níveis séricos de sais biliares
   b. Icterícia
   c. Aumento da formação de bile
   d. Urina de coloração marrom-escura
   e. Deficiência de vitamina A

7. Quais das seguintes afirmações relacionadas a dano hepático é FALSA?
   a. Elevadas doses de paracetamol causam bloqueio dos sinusoides hepáticos.
   b. Fármacos hidrofílicos prontamente se difundem para o interior dos hepatócitos devido aos grandes poros sinusoidais.
   c. Há transportadores sinusoidais que captam substâncias tóxicas para o interior dos hepatócitos.
   d. O câncer hepatocelular está associado ao abuso de andrógenos.
   e. Na cirrose, o excesso de colágeno está diminuído em resposta a dano direto ou inflamação.

8. A herança genética da enzima aldeído desidrogenase "lenta" resultaria em qual das seguintes afirmações após a ingestão de etanol?
   a. Tolerância elevada ao etanol
   b. Pouca resposta a doses baixas de etanol
   c. Níveis séricos baixos de acetaldeído
   d. Náusea
   e. Níveis aumentados de etanol sanguíneo comparados aos de um indivíduo com aldeído desidrogenase normal

9. Qual das seguintes opções NÃO é um mecanismo comum de dano hepatocelular?
   a. Deformação do citoesqueleto do hepatócito
   b. Dano mitocondrial
   c. Colestase
   d. Interferência com o transporte vesicular
   e. Aumento da transcitose entre os hepatócitos

10. O etanol não causa qual dos seguintes tipos de dano hepatocelular?
    a. Fígado gorduroso
    b. Morte de hepatócito
    c. Fibrose
    d. Resposta imunemediada
    e. Colestase canalicular

CAPÍTULO

14

Reações Tóxicas dos Rins

Rick G. Schnellmann

ANATOMIA FUNCIONAL
- Vascular renal e glomérulo
- Túbulo proximal
- Alça de Henle
- Túbulo distal e ducto coletor

RESPOSTAS FISIOPATOLÓGICAS DOS RINS
- Lesão aguda dos rins
- Adaptação pós-agressão tóxica
- Insuficiência renal crônica

SUSCETIBILIDADE DOS RINS À AGRESSÃO TÓXICA
- Incidência e gravidade da nefropatia tóxica
- Razões para a suscetibilidade dos rins à toxicidade
- Lesão glomerular
- Lesão tubular proximal
- Lesão em alça de Henle/túbulo distal/ducto coletor
- Lesão papilar

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

MECANISMOS BIOQUÍMICOS/ MEDIADORES DE LESÃO DE CÉLULAS RENAIS
- Morte celular
- Mediadores de toxicidade
- Volume celular e homeostase iônica
- Citoesqueleto e polaridade celular
- Mitocôndrias
- Lisossomos
- Homeostase de Ca^{2+}
- Fosfolipases
- Endonucleases
- Proteinases
- Quinases de sinalização

NEFROTOXICANTES ESPECÍFICOS
- **Metais pesados**
  - Mercúrio
  - Cádmio
- **Nefropatia de globulina α_{2u} quimicamente induzida**
- **Hidrocarbonetos halogenados**
  - Clorofórmio
  - Tetrafluoretileno
  - Bromobenzeno
- **Micotoxinas**
- **Agentes terapêuticos**
  - Paracetamol
  - Fármacos anti-inflamatórios não esteroides
- **Aminoglicosídeos**
  - Anfotericina B
  - Ciclosporina
  - Cisplatina
  - Agentes de radiocontraste

PONTOS-CHAVE

- Os rins contribuem para a homeostase total do organismo pelo papel que desempenham na excreção de resíduos metabólicos, pela síntese e liberação de renina e eritropoietina, além de regularem o volume de fluidos extracelulares, a composição de eletrólitos e o equilíbrio acidobásico.
- Os xenobióticos na circulação sistêmica são passados aos rins em quantidades relativamente altas.
- Os processos que concentram urina também servem para a concentração de substâncias tóxicas em potencial no fluido tubular.
- Transporte renal, acumulação e biotransformação de xenobióticos contribuem para a suscetibilidade dos rins a danos decorrentes de toxicidade.
- Diversos nefrotoxicantes causam disfunção mitocondrial pelo comprometimento da respiração e produção de ATP ou por algum outro processo celular, provocando tanto apoptose como necrose.

A integridade funcional dos rins de mamíferos é vital para a homeostase do corpo em virtude do papel que desempenham na excreção de resíduos metabólicos, na síntese e na liberação dos hormônios renina e eritropoietina, bem como na regulação do volume de fluidos extracelulares, na composição de eletrólitos e no equilíbrio acidobásico.

O glomérulo é um leito capilar complexo e especializado que filtra uma parte do sangue em um ultrafiltrado que passa pela porção tubular do néfron. A formação desse ultrafiltrado é o resultado líquido do equilíbrio entre a pressão hidrostática transcapilar e a pressão oncótica coloidal. Um determinante adicional da ultrafiltração é a permeabilidade hidráulica efetiva da

ANATOMIA FUNCIONAL

O exame preliminar da secção sagital de um rim revela três áreas anatômicas claramente marcadas: o córtex, a medula e a papila (Fig. 14.1). O córtex recebe cerca de 90% do fluxo sanguíneo em comparação com a medula (~6 a 10%) ou a papila (1 a 2%). Dessa forma, quando uma substância tóxica originária do sangue chega aos rins, uma alta porcentagem desse material irá para o córtex, tendo mais chances de influenciar as funções corticais do que as funções medulares e papilares. A unidade funcional dos rins, o néfron, pode ser considerada em três partes: o elemento vascular, o glomérulo e o elemento tubular.

Vascular renal e glomérulo

As ramificações renais estendem-se em arteríolas aferentes que preenchem o glomérulo (Fig. 14.1). O sangue, então, deixa os capilares do glomérulo por meio das arteríolas eferentes. Tanto as arteríolas aferentes como as eferentes controlam a pressão capilar glomerular e a taxa de fluxo do plasma glomerular. Essas arteríolas são inervadas pelo sistema nervoso simpático e reagem ao estímulo nervoso, à angiotensina II, à vasopressina, à endotelina, à adenosina e à noradrenalina. As arteríolas eferentes que drenam os glomérulos corticais se ramificam em uma rede capilar peritubular, enquanto aquelas que drenam os glomérulos justamedulares formam uma alça capilar, a vasa recta, preenchendo as estruturas medulares. Essas alças capilares pós-glomerulares propiciam a entrega de nutrientes às estruturas tubulares pós-glomerulares, a entrega de resíduos ao túbulo para excreção e o retorno de eletrólitos reabsorvidos, nutrientes e água para a circulação sistêmica.

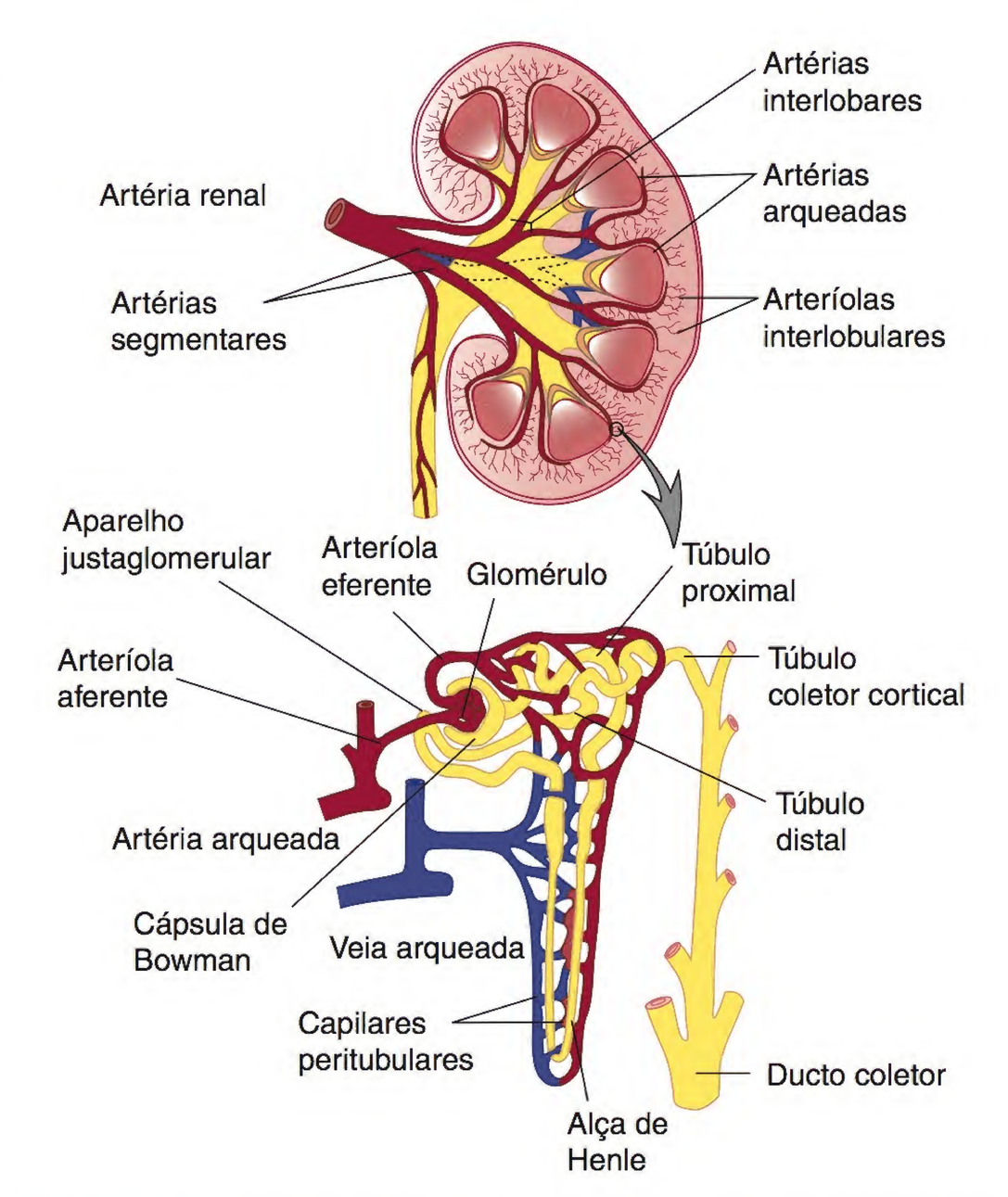


FIGURA 14.1 Esquema de rim humano mostrando os vasos sanguíneos principais, a microcirculação e componentes tubulares de cada néfron. (Retirada de Guyton AC, Hall JE (11th ed.): *Textbook of Medical Physiology*. Philadelphia: Saunders, 2006, p. 318, com permissão da Elsevier.)

membrana capilar glomerular, em outras palavras, o coeficiente de ultrafiltração (K_f), que é determinado pela área de superfície total disponível para a filtração e a permeabilidade hidráulica da membrana capilar.

Embora a membrana capilar glomerular permita uma alta taxa de filtração de fluidos, ela constitui uma barreira significativa à passagem transglomerular de macromoléculas; assim, moléculas pequenas, como a inulina (MW 5.500), são filtradas livremente, enquanto moléculas grandes, como a albumina (MW 56.000 a 70.000), são restringidas. A filtração de moléculas aniônicas tende a ser restringida em comparação àquela de moléculas neutras a catiônicas do mesmo tamanho.

Túbulo proximal

O túbulo proximal consiste em três segmentos distintos: S1 (pars convoluta), S2 (transição entre pars convoluta e pars recta) e S3 (pars recta). O volume e a composição do filtrado glomerular alteram-se progressivamente à medida que o fluido passa através de cada segmento tubular. O túbulo proximal reabsorve aproximadamente 60 a 80% do soluto e da água filtrada no glomérulo, na maior parte por múltiplos sistemas de transporte capazes de realizar o transporte concentrador de muitos substratos metabólicos. O túbulo proximal também reabsorve virtualmente todas as proteínas de baixo peso molecular filtradas por meio de processos de reabsorção de proteínas endocíticas específicos.

Alça de Henle

Aproximadamente 25% do Na^+ e K^+ filtrados e 20% da água filtrada são reabsorvidos pelos segmentos da alça de Henle. O fluido tubular que entra no ramo descendente delgado é iso-osmótico em relação ao interstício renal; a água é livremente permeável, e os solutos, tais como eletrólitos e ureia, podem entrar a partir do interstício. Em contrapartida, o ramo ascendente delgado é relativamente impermeável à água e à ureia, e o Na^+ e o Cl^- são reabsorvidos por difusão passiva. O ramo ascendente espesso é impermeável à água, e os eletrólitos são reabsorvidos pelo mecanismo de cotransporte ativo de $Na^+/K^+/2Cl^-$, com a energia fornecida por Na^+, K^+-ATPase.

Túbulo distal e ducto coletor

A mácula densa consiste em células especializadas localizadas entre a extremidade do ramo ascendente espesso e o início do túbulo distal, bem próxima da arteríola aferente. Sob condições fisiológicas normais, o aumento na entrega de solutos ou a concentração na mácula densa disparam um sinal que resulta em constrição das arteríolas aferentes, o que leva a uma redução da taxa de filtração glomerular (TFG) (e, por conseguinte, a uma redução de entrega de soluto). Esse mecanismo regulador conserva o volume, voltado para diminuir a TFG e prevenir perdas maciças de fluido/eletrólitos em função de má reabsorção tubular. O sistema renina-angiotensina e outras substâncias podem ser envolvidos. O túbulo distal anterior reabsorve a maior parte de Na^+, K^+ e Cl^- intraluminares remanescentes, mas é relativamente impermeável à água.

O túbulo distal posterior, o túbulo coletor cortical e o ducto coletor medular realizam a regulação final e o ajuste delgado do volume e da composição da urina. O Na^+ restante é reabsorvido junto com a secreção de K^+ e H^+ no túbulo distal posterior e no túbulo coletor cortical. A combinação de hipertonicidade medular e papilar gerada por multiplicação em contracorrente e a ação do hormônio antidiurético (vasopressina, ADH) servem para aumentar a permeabilidade da água do ducto coletor medular.

RESPOSTAS FISIOPATOLÓGICAS DOS RINS

Lesão aguda dos rins

Uma das manifestações mais comuns de lesão nefrotoxicante é a insuficiência renal aguda (IRA), caracterizada por um declínio abrupto na TFG, resultando em azotemia ou em acúmulo de resíduos de hidrogênio no sangue. A lesão renal aguda (LRA) descreve todo o espectro da doença e é definida como uma condição complexa que engloba fatores causais múltiplos com manifestações clínicas que variam de elevação mínima da creatinina sérica até insuficiência renal anúrica. A Figura 14.2 ilustra as vias que levam a uma TFG diminuída após exposição química. A Tabela 14.1 fornece uma listagem parcial de substâncias químicas que produzem IRA por diferentes mecanismos.

A manutenção da integridade tubular depende de adesão célula-célula e célula-matriz (Fig. 14.3). Há uma hipótese de que, após a incidência de lesão química ou por hipoxia, a adesão de células não letalmente lesadas, apoptóticas e oncóticas à membrana de base fica comprometida, levando a falhas no revestimento celular epitelial, resultando em perda inadequada do filtrado e diminuição na TFG. Essas células soltas podem se agregar no lúmen tubular (adesão célula-célula) e/ou aderir ou se fixar novamente às células epiteliais aderentes mais adiante, causando obstrução tubular.

Há um número crescente de evidências que suportam a ideia de que as células inflamatórias desempenham seu papel na LRA induzida por isquemia. A lesão ao endotélio vascular renal resulta na produção de quimiocina e citocina pró-inflamatória e adesão de neutrófilos, mas o papel específico de cada célula inflamatória ainda precisa ser elucidado.

Adaptação pós-agressão tóxica

Os rins apresentam uma notável habilidade de compensação por perdas de massa funcional renal. Após uma nefrectomia unilateral, a TFG do outro rim aumenta em aproximadamente 40 a 60%. Aumentos compensatórios na TFG de um só néfron são acompanhados de aumentos proporcionais da reabsorção de solutos e água tubular proximal. O equilíbrio glomerotubular é, portanto, mantido, e a função renal geral apresenta-se normal em testes clínicos padrões. Consequentemente, as alterações químicas induzidas na função renal podem não ser detectadas até que esses mecanismos compensatórios sejam superados por perda significativa e/ou danos ao néfron.

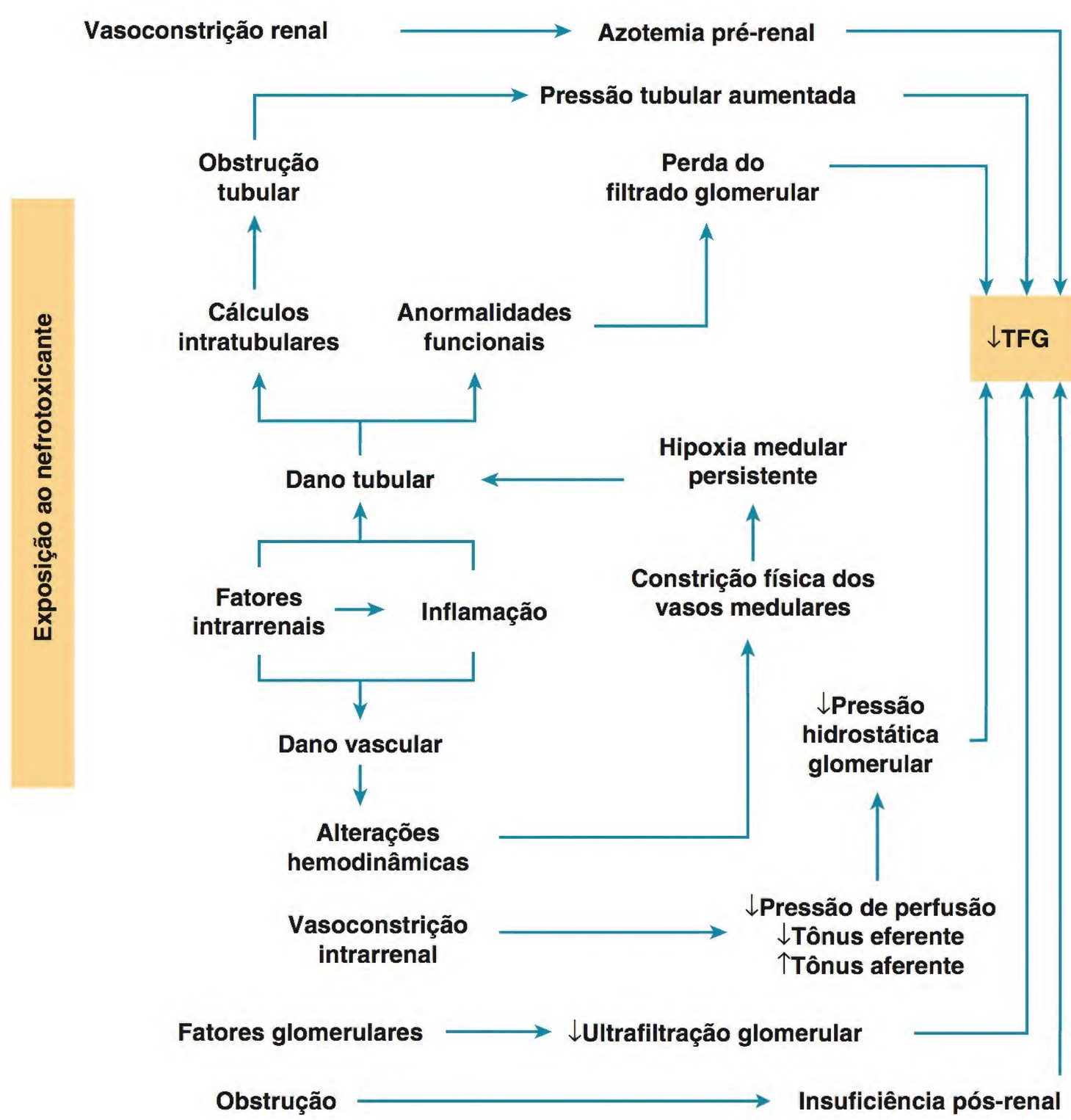


FIGURA 14.2 Mecanismos que contribuem para uma TFG diminuída em insuficiência renal aguda. Após exposição a um nefrotoxicante, um ou mais mecanismos podem contribuir para a redução da TFG. Isso inclui vasoconstrição renal resultando em azotemia pré-renal e obstrução em virtude da precipitação de um fármaco ou composto endógeno no rim. Os fatores intrarrenais incluem disfunção e obstrução tubular direta, levando a perda tubular e pressão tubular aumentada. Alterações nos níveis de vários mediadores vasoativos podem resultar em diminuição da pressão da perfusão renal ou do tônus de arteríolas eferentes, além de tônus de arteríolas aferentes aumentado, resultando em pressão hidrostática glomerular diminuída. (Adaptada de Schnellmann RG, Kelly KJ: *Pathophysiology of Nephrotoxic Acute Renal Failure*. In Schrier RW: *Atlas of Diseases of the Kidney*. Philadelphia: Current Medicine, 1999, p. 15.4, com permissão.)

TABELA 14.1 Mecanismos da insuficiência renal aguda quimicamente induzida

Pré-renal	Vasoconstrição	Cristalúria	Toxicidade tubular	Lesão endotelial	Glomerulopatia	Nefrite intersticial
Diuréticos Antagonistas do receptor da angiotensina Inibidores da enzima de conversão da angiotensina Agentes anti-hipertensivos	Fármacos anti-inflamatórios não esteroides Agentes de radiocontraste Ciclosporina Tacrolimo Anfotericina B	Sulfonamidas Metotrexato Aciclovir Etilenoglicol Inibidores da protease	Aminoglicosídeos Cisplatina Vancomicina Pentamidina Agentes de radiocontraste Metais pesados Haloalcano e conjugados de haloalcanos e cisteína	Ciclosporina Mitomicina C Tacrolimo Cocaína Estrógenos conjugados Quinina	Ouro Penicilamina Fármacos anti-inflamatórios não esteroides	Antibióticos Fármacos anti-inflamatórios não esteroides Diuréticos

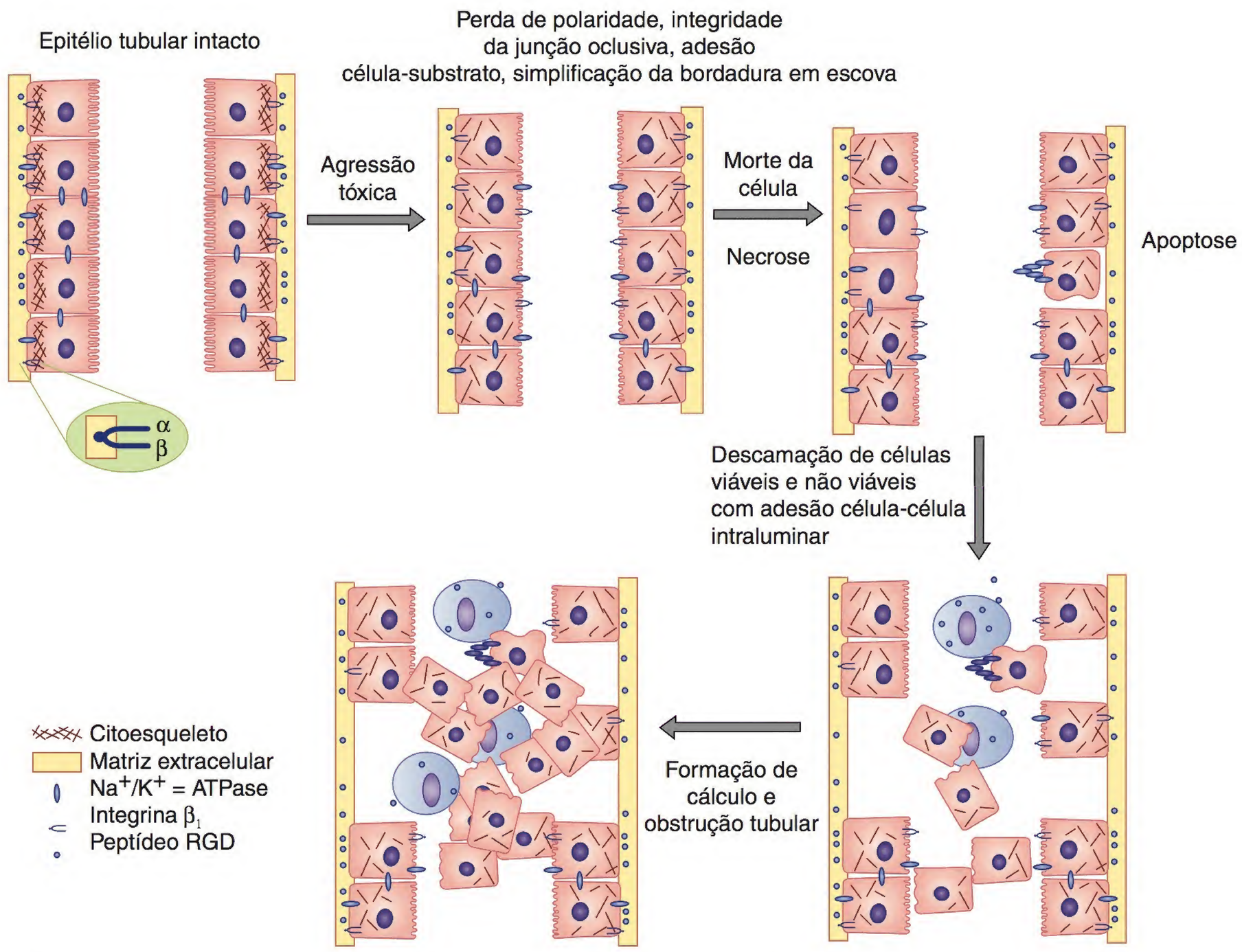


FIGURA 14.3 Após trauma, as alterações podem ocorrer no citoesqueleto e na distribuição normal de proteínas da membrana como Na^+, K^+ –ATPase e integrinas β_1 em células tubulares renais subletalmente atingidas. Essas alterações resultam em perda de polaridade celular, integridade da junção oclusiva e adesão célula-substrato. As células letalmente atingidas passam por oncose ou apoptose, e tanto as células mortas como as viáveis podem ser liberadas dentro do lúmen tubular. A adesão de células liberadas a outras células liberadas, bem como a células que permanecem aderentes à membrana de base, pode resultar em formação de cálculo, obstrução tubular e comprometer ainda mais a TFG (De Schnellmann RG, Kelly KJ: *Pathophysiology of Nephrotoxic Acute Renal Failure*. In Schrier RW: *Atlas of Diseases of the Kidney*. Philadelphia: Current Medicine, 1999, p. 15.5, com permissão).

Há diversas reações celulares e moleculares decorrentes de uma agressão nefrotóxica. Após a exposição de uma população de células renais a uma substância tóxica, parte das células é gravemente danificada, evoluindo para morte celular por apoptose ou oncose (morte celular necrótica) (Fig. 14.4). As células com lesão não letal podem ser reparadas e/ou adaptadas, o que contribui para a recuperação estrutural e funcional do néfron. Além disso, há uma população de células não atingidas que pode passar por hipertrofia compensatória, adaptação celular e proliferação celular. As células epiteliais tubulares são primariamente responsáveis pela recuperação estrutural e funcional do néfron após o trauma por meio da reposição de células mortas ou desgarradas por desdiferenciação, proliferação, migração e rediferenciação.

Duas das mais notáveis reações de adaptação celular são a indução da metalotioneína e a indução de proteína de estresse. A distribuição das proteínas de choque térmico (*heat-shock*, ou Hsps) individuais e proteínas reguladas pela glicose (Grps – *glucose-regulated proteins*) varia entre diferentes tipos de células nos rins e dentro dos compartimentos subcelulares. Essas proteínas estão envolvidas na manutenção da estrutura proteica normal e na degradação de proteínas danificadas, além de oferecerem um mecanismo de defesa contra toxicidade ao facilitarem a recuperação e o reparo.

Insuficiência renal crônica

A deterioração progressiva da função renal pode ocorrer com a exposição a vários compostos químicos a longo prazo. Após a perda do néfron, aumentos adaptativos nas pressões e nos fluxos glomerulares aumentam a TFG do néfron entre os néfrons viáveis restantes, o que serve para manter a TFG em todo o rim. Com o tempo, essas alterações se tornam desajustadas, e a glomeruloesclerose focal acaba se desenvolvendo, podendo provocar atrofia tubular e fibrose intersticial. Os aumentos compensatórios nas pressões e nos fluxos glomerulares dos glomérulos remanescentes podem resultar em dano mecânico aos capilares, conduzindo a permeabilidades alteradas.

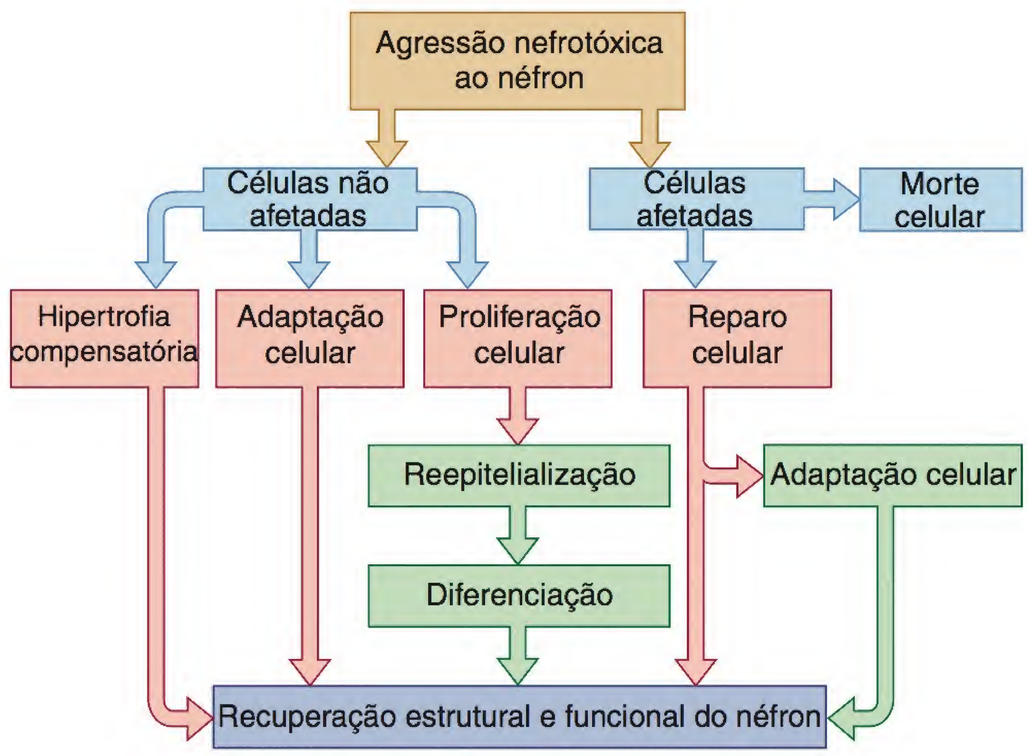


FIGURA 14.4 A reação do néfron a uma agressão nefrotóxica. Após a exposição de uma população de células a um nefrotoxicante, as células reagem; por fim, o néfron recupera-se funcionalmente ou, se a morte celular e a perda forem extensivas, o néfron cessa sua função. Células gravemente afetadas evoluem para morte celular por oncose ou apoptose. As subletalmente afetadas passam por reparo ou adaptação em reação ao nefrotoxicante. As células não afetadas e adjacentes à área atingida podem passar por desdiferenciação, proliferação, migração ou disseminação, além de diferenciação. Podem, também, experimentar hipertrofia compensatória em resposta à perda ou ao dano celular. Por fim, as células não atingidas também podem passar por adaptação em resposta a uma exposição ao nefrotoxicante. (De Schnellmann RG, Kelly KJ: *Pathophysiology of Nephrotoxic Acute Renal Failure*. In Schrier RW: *Atlas of Diseases of the Kidney*. Philadelphia: Current Medicine, 1999, p. 15.4, com permissão.)

SUSCETIBILIDADE DOS RINS À AGRESSÃO TÓXICA

Incidência e gravidade da nefropatia tóxica

Uma vasta variedade de fármacos, compostos químicos ambientais e metais pode causar nefrotoxicidade localizada (Tab. 14.1). As consequências da IRA variam de recuperação a lesão renal permanente, que pode exigir diálise ou transplante renal.

Razões para a suscetibilidade dos rins à toxicidade

Embora os rins constituam apenas 0,5% da massa corporal total, eles recebem cerca de 20 a 25% do débito cardíaco em repouso. Consequentemente, qualquer fármaco ou composto químico na circulação sistêmica passará por esses órgãos em quantidades relativamente altas. Os processos envolvidos na formação de urina concentrada também servem para concentrar toxicantes potenciais no fluido tubular, por meio do que conduzem à difusão passiva de toxicantes dentro das células tubulares. Portanto, uma concentração não tóxica de determinada substância química no plasma pode alcançar concentrações tóxicas nos rins e em seus túbulos. Por fim, o transporte renal, a acumulação e o metabolismo de xenobióticos contribuem significativamente para a suscetibilidade dos rins a lesão por toxicantes.

Além dos fatores intrarrenais, a incidência e/ou gravidade de nefrotoxicidade quimicamente induzida podem estar relacionadas à sensibilidade dos rins a vasoconstritores circulantes (angiotensina II ou vasopressina), cuja ação é normalmente contrabalanceada pelas atividades de prostaglandinas vasodilatadoras aumentadas. Quando a síntese da prostaglandina é suprimida por fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), o fluxo sanguíneo renal (FSR) declina notavelmente e a IRA sobrevém, em virtude das ações sem obstáculos dos vasoconstritores. Outro exemplo de fatores de risco predisponentes refere-se ao uso clínico de inibidores da enzima de conversão da angiotensina (ECA). A pressão de filtração glomerular depende da constrição arteriolar eferente induzida por angiotensina II. Os inibidores da ECA bloqueiam essa vasoconstrição, resultando em um declínio abrupto da pressão de filtração e IRA.

Lesão glomerular

O glomérulo é o lugar inicial da exposição química dentro do néfron, e vários nefrotoxicantes alteram a permeabilidade glomerular a proteínas.

A ciclosporina, a anfotericina B e a gentamicina prejudicam a ultrafiltração glomerular sem perda significativa da integridade estrutural e diminuem a TFG. A anfotericina B diminui a TFG causando vasoconstrição renal e diminuindo o coeficiente de ultrafiltração capilar glomerular (*Kf*). A gentamicina interage com os sítios aniônicos nas células endoteliais, diminuindo o *Kf* e a TFG. Por último, a ciclosporina não apenas causa vasoconstrição renal e lesão vascular, mas também prejudica a célula endotelial glomerular.

A lesão glomerular quimicamente induzida também pode ser mediada por fatores extrarrenais. Complexos imunes circulantes podem ficar presos dentro dos glomérulos. Neutrófilos e macrófagos são comumente observados dentro dos glomérulos em glomerulonefrite membranosa, e a liberação local de citocinas e espécies de oxigênio reativas (ROS) pode contribuir para a lesão glomerular. Metais pesados, hidrocarbonetos, penicilamina e captopril podem produzir esse tipo de lesão glomerular. Uma substância química pode funcionar como um hapteno ligado a alguma proteína nativa ou como um antígeno completo e resultar em uma reação de anticorpo. Reações de anticorpos com antígenos de superfície celular (p. ex., GBM) provocam formação de depósitos imunes dentro dos glomérulos, ativação mediadora e subsequente lesão do tecido glomerular.

Lesão tubular proximal

O túbulo proximal é o local mais comum em que ocorre lesão renal induzida por toxicantes. As razões para esse fato estão, em parte, relacionadas à acumulação seletiva de xenobióticos dentro desse segmento do néfron. O túbulo proximal tem um epitélio propenso ao escape de líquido, favorecendo o fluxo de compostos para as células tubulares proximais. O potencial nefrotoxicante dos xenobióticos depende da reatividade intrínseca do fármaco com alvos moleculares ou subcelulares. Tanto o citocromo P450 como o conjugado de cisteína β-liase estão localizados quase exclusivamente no túbulo proximal, e a bioativação contribui, ao

menos em parte, para a ocorrência de lesões tubulares proximais produzidas por clorofórmio (via citocromo P450). Por fim, as células tubulares proximais parecem ser mais suscetíveis a lesão isquêmica do que as células tubulares distais.

Lesão em alça de Henle/túbulo distal/ducto coletor

As anomalias funcionais nesses locais manifestam-se primeiramente como problemas na capacidade de concentração e/ou irregularidades de acidificação. A anfotericina B, a cisplatina e o metoxiflurano induzem a poliúria resistente a ADH, sugerindo que a falha na concentração ocorre no ramo ascendente espesso medular e/ou no ducto coletor.

Lesão papilar

O alvo inicial do consumo abusivo de analgésicos são as células intersticiais medulares, seguindo-se alterações degenerativas nos capilares medulares, nas alças de Henle e nos ductos coletores. Altas concentrações papilares de toxicantes potenciais e inibição de prostaglandinas vasodilatadoras comprometem o FSR para a medula/papila renal e resultam em isquemia do tecido.

AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL

Ambos os métodos, *in vivo* e *in vitro*, estão disponíveis para a avaliação dos efeitos de um composto químico na função renal. Inicialmente, a nefrotoxicidade pode ser avaliada analisando-se as químicas do soro e da urina após tratamento com os toxicantes em questão. A bateria padrão de testes não invasivos inclui medição do volume de urina e osmolalidade, pH e composição urinária (p. ex., eletrólitos, glicose e proteínas).

Aumentos quimicamente induzidos no volume da urina acompanhados por diminuições na osmolalidade podem apontar para problemas na capacidade de concentração, possivelmente por defeito na síntese, liberação e/ou ação de ADH. A glicosúria pode refletir problemas quimicamente induzidos na reabsorção tubular proximal de açúcares ou ser secundária a hiperglicemia. A excreção urinária de proteínas de alto peso molecular, tais como a albumina, sugere lesão glomerular, ao passo que a excreção de proteínas de baixo peso molecular, como a microglobulina β_2, sugere lesão tubular proximal. A excreção urinária de enzimas localizadas na bordadura em escova (p. ex., fosfatase alcalina e γ-glutamil transferase) pode indicar danos nesse local, enquanto a excreção urinária de outras enzimas (p. ex., a lactato desidrogenase) pode refletir um dano celular mais generalizado. A enzimúria é, com frequência, um fenômeno transitório, à medida que lesões quimicamente induzidas podem resultar em uma perda precoce da maior parte das enzimas disponíveis. Dessa forma, a ausência de enzimúria não necessariamente reflete a ausência de lesão.

A TFG pode ser medida diretamente determinando-se o *clearance* de creatinina ou de inulina. Ambas são essencial e livremente filtradas e não reabsorvidas nem secretadas. Portanto, o *clearance* de creatinina ou inulina é praticamente o mesmo da TFG. A creatinina é um composto endógeno liberado pelo músculo esquelético. A inulina é um composto exógeno. O *clearance* da creatinina ou inulina é determinado pela seguinte fórmula:

$$\textit{Clearance}\text{ de inulina (mL/min)} = \frac{\text{Concentração de inulina na urina (mg/L)} \times \text{Volume de urina (mL/min)}}{\text{Concentração de inulina no soro (mg/L)}}$$

Marcadores indiretos da TFG são as concentrações em série de nitrogênio ureico sério (BUN) e creatinina sérica. Entretanto, uma diminuição de 50 a 70% na TFG deve ocorrer antes de acontecerem os aumentos de creatinina sérica e BUN. Aumentos quimicamente induzidos de BUN e/ou creatinina sérica podem não refletir necessariamente uma lesão renal, podendo ser decorrentes de desidratação, hipovolemia e/ou catabolismo proteico.

A avaliação histopatológica do rim após tratamento é essencial para serem identificados o local, a natureza e a gravidade da lesão nefrotóxica. A análise da nefrotoxicidade quimicamente induzida deve incluir, portanto, análises de urina, sangue e histopatologia, a fim de oferecer um perfil razoável dos efeitos funcionais e morfológicos de uma substância química nos rins. Além disso, informações sobre biotransformação e toxicocinética do composto devem ser utilizadas para conduzir estudos adicionais *in vivo* e *in vitro*.

Várias técnicas *in vitro* podem ser utilizadas para elucidar mecanismos subjacentes. Rins perfundidos isolados recentes, cortes de rins, células e suspensões tubulares renais apresentam níveis máximos de funções diferenciadas e similaridade à situação *in vivo*, mas esses modelos têm tempo útil limitado de 2 a 24 horas. Em contrapartida, as culturas primárias de células renais e linhas celulares renais estabelecidas apresentam tempos de vida útil maiores (> 2 semanas). Uma vez que se tenha identificado um mecanismo *in vitro*, o mecanismo postulado deve ser testado *in vivo*. Assim, estudos adequadamente preparados *in vivo* e *in vitro* devem oferecer uma caracterização completa dos efeitos bioquímicos, funcionais e morfológicos de um composto químico sobre os rins e um entendimento sobre os mecanismos subjacentes nas populações de célula-alvo.

MECANISMOS BIOQUÍMICOS/ MEDIADORES DE LESÃO DE CÉLULAS RENAIS

Morte celular

A morte celular pode ocorrer tanto por oncose como por apoptose. A apoptose é um processo rigidamente controlado e organizado que, em geral, afeta células individuais dispersas. Por fim, a célula reparte-se em pequenos fragmentos que são fagocitados por células adjacentes ou macrófagos sem produzir resposta inflamatória. A oncose, por sua vez, costuma afetar muitas células contíguas. As células rompem-se, liberando conteúdo celular e causando inflamação. Com muitos toxicantes, concentrações baixas, porém capazes de causar lesão, provocam morte celular por meio de apoptose. Conforme a concentração do toxicante aumenta, a oncose desempenha um papel predominante.

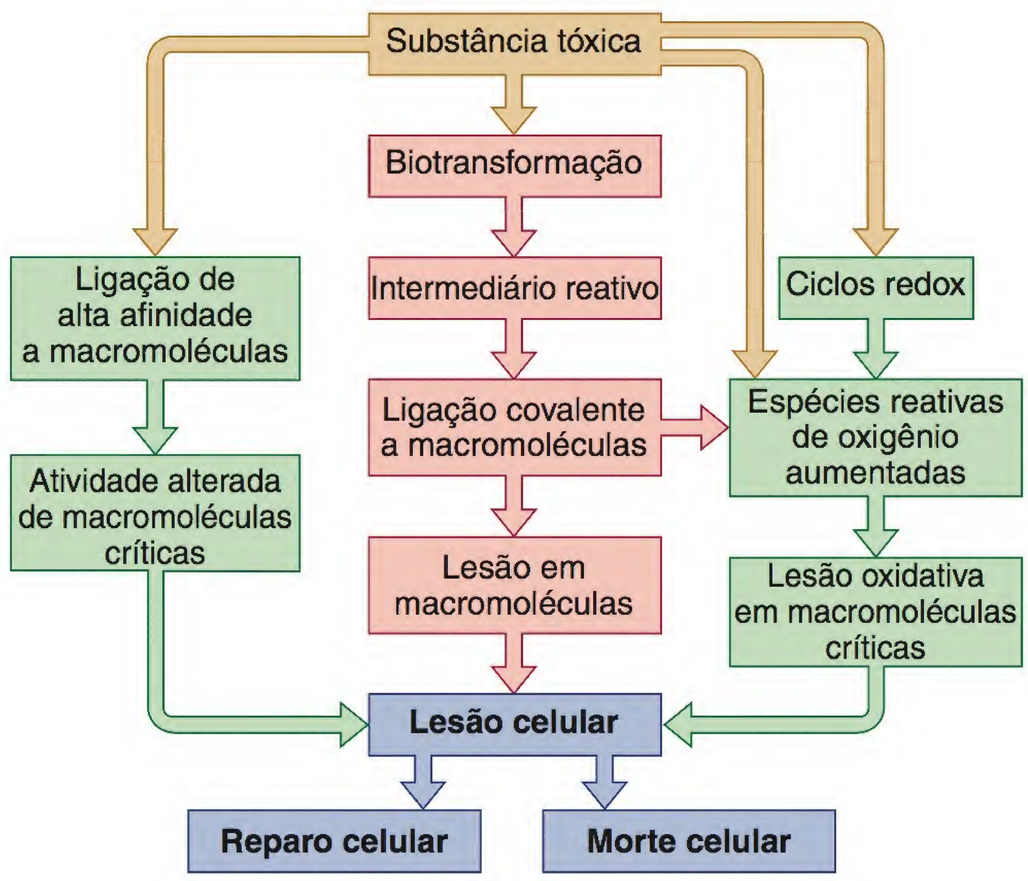


FIGURA 14.5 Ligação covalente e não covalente *versus* mecanismos de estresse oxidativo na lesão celular. Geralmente, os nefrotoxicantes são considerados produtores de lesão e morte celular por meio de dois mecanismos, tanto juntos como separados. Em alguns casos, a substância tóxica pode ter uma alta afinidade por uma macromolécula específica ou classe de macromoléculas, resultando em alteração de atividade (aumento ou diminuição) dessas moléculas e lesão celular. De forma alternativa, o nefrotoxicante pai pode não ser tóxico até ser biotransformado em um intermediário reativo que faz ligação covalente com as macromoléculas e, por sua vez, altera sua atividade, levando à lesão celular. Por fim, a substância tóxica pode aumentar as espécies reativas de oxigênio diretamente nas células, após a biotransformação em um intermediário reativo ou por meio de ciclos redox. O aumento resultante nas espécies reativas de oxigênio provoca lesão oxidativa e celular. (De Schnellmann RG, Kelly KJ: *Pathophysiology of Nephrotoxic Acute Renal Failure*. In Schrier RW: *Atlas of Diseases of the Kidney*. Philadelphia: Current Medicine, 1999, p. 15.7, com permissão.)

Mediadores de toxicidade

Uma substância química pode disparar uma lesão celular por meio de vários mecanismos (Fig. 14.5). A substância pode iniciar o processo de toxicidade devido a sua reatividade intrínseca com macromoléculas celulares, demandar bioativação renal ou extrarrenal para um intermediário reativo ou iniciar a lesão indiretamente ao induzir estresse oxidativo pela produção aumentada de ROS, como ânions superóxido, peróxido de hidrogênio e radicais hidroxil. A ROS e as espécies reativas de nitrogênio do óxido nítrico, como o peroxinitrito (ONOO–), podem atacar proteínas, lipídeos e DNA para induzir toxicidade.

Volume celular e homeostase iônica

O volume celular e a homeostase iônica são rigidamente regulados e essenciais para as propriedades de reabsorção das células epiteliais tubulares. As substâncias tóxicas geralmente rompem o volume das células e a homeostase iônica tanto pelo aumento da permeabilidade iônica como pela inibição da produção de energia. A perda de ATP provoca inibição dos transportadores da membrana que mantêm o equilíbrio iônico interno.

Citoesqueleto e polaridade celular

Substâncias tóxicas podem causar alterações precoces na integridade da membrana, como perda da bordadura em escova, formação de bolhas na membrana plasmática ou alterações na polaridade da membrana. Essas mudanças podem advir de alterações induzidas pelo toxicante em componentes citoesqueléticos e interações citoesqueleto-membrana ou estar associadas a perturbações no metabolismo energético ou homeostase cálcio-fosfolipídeo. Sob situações controladas, a célula epitelial tubular é polarizada em relação a certos transportadores e enzimas. Durante a isquemia *in vivo* e a depleção de ATP *in vitro*, há a dissociação de Na^+, K^+-ATPase do citoesqueleto de actina e a redistribuição da membrana basolateral ao domínio apical em células tubulares proximais renais, diminuindo, assim, a reabsorção de água e sódio.

Mitocôndrias

Diversos nefrotoxicantes causam disfunção mitocondrial ao comprometer a respiração e a produção de ATP ou algum outro processo celular. Sabe-se que as mitocôndrias desempenham um papel primordial para determinar se as células irão morrer por apoptose ou oncose, dependendo dos níveis celulares de ATP. A transição de permeabilidade mitocondrial ocorre durante a lesão celular e, por fim, evolui para apoptose (se houver ATP disponível o suficiente) ou para oncose (se o ATP for esgotado). Além disso, a liberação de proteínas apoptóticas, tais como o fator indutor de apoptose (FIA) e o citocromo c pós-transição de permeabilidade mitocondrial (TPM), desempenha um papel essencial na ativação de caspases posteriores e na execução da apoptose.

Lisossomos

Acredita-se que os lisossomos, alvos subcelulares fundamentais de aminoglicosídeos, gasolina livre de chumbo e D-limoneno, causem lesão celular pela ruptura e liberação de enzimas de lisossomos e substâncias tóxicas dentro do citoplasma, após acumulação excessiva de substâncias tóxicas reabsorvidas e sobrecarga de lisossomos.

Homeostase de Ca^{2+}

A distribuição de Ca^{2+} dentro das células renais é complexa, envolve ligação com sítios aniônicos em macromoléculas e compartimentalização dentro de organelas subcelulares. O grupo Ca^{2+} celular essencial para regulação é o Ca^{2+} livre encontrado no citosol em uma concentração de aproximadamente 100nM. Esse nível é mantido por uma série de bombas e canais localizados na membrana plasmática e no retículo endoplasmático. Elevações sustentadas ou grandes aumentos anormais de Ca^{2+} livre de citosol podem ativar diversas enzimas dependentes de Ca^{2+} degradante, tais como fosfolipases e proteinases, que podem produzir aberrações na estrutura e função dos elementos citoesqueléticos.

Fosfolipases

A fosfolipase A_2 (PLA_2) é uma família de enzimas que hidrolisam fosfolipídeos. Um aumento suprafisiológico em PLA_2, pode resultar na perda de fosfolipídeos da membrana e, consequentemente, prejudicar a função da membrana. O aumento da atividade da PLA_2 pode ser secundário ao aumento em Ca^{2+} do citosol, uma vez que algumas enzimas de PLA_2 se movem para membranas após aumentos em Ca^{2+} livre de citosol.

Endonucleases

Há indícios de que a ativação de endonucleases e a clivagem do DNA associado impactem a apoptose e oncose celular renal após hipoxia e reoxigenização.

Proteinases

A ativação suprafisiológica de proteinases pode romper a função citoesquelética e a membrana normal, levando à morte celular. Em condições de lesão celular, a membrana lisossômica pode se romper, liberando hidrolases no citosol e degradando proteínas suscetíveis. As calpaínas são ativadas pelo cálcio e dispõem de proteínas citoesqueléticas, proteínas de membrana, além de enzimas e substratos. Além disso, as caspases são outra classe de proteinases de cisteína que agem na morte celular renal. As caspases 1, 2, 3, 6 e 9 foram identificadas em rins de ratos.

Quinases de sinalização

As quinases de sinalização fosforilam outras proteínas e, por isso, alteram sua atividade, expressão ou localização. Essas quinases desempenham papéis-chave na morte celular renal e na recuperação de células renais pós-lesão por toxicante.

NEFROTOXICANTES ESPECÍFICOS

Metais pesados

Muitos metais são nefrotoxicantes, incluindo cádmio, cromo, chumbo, mercúrio, platina e urânio. A natureza e a gravidade da nefrotoxicidade desses metais variam em relação a sua forma. Além disso, metais diferentes têm alvos primários distintos dentro dos rins. Os metais podem causar lesão celular renal por meio de sua capacidade de ligação com grupos sulfídricos de proteínas fundamentais dentro das células e, por meio disso, inibir sua função normal.

Mercúrio Os rins são o alvo primário para o acúmulo de Hg^{2+}, e o segmento S_3 do túbulo proximal é o local inicial de toxicidade. A nefrotoxicidade aguda induzida por $HgCl_2$ é caracterizada por necrose tubular proximal e IRA dentro de 24 a 48 horas após a administração. Marcadores precoces de disfunção renal induzida por $HgCl_2$ incluem aumento na excreção urinária das enzimas da bordadura em escova, tais como fosfatase alcalina e γ-GT. Subsequentemente, quando a lesão tubular se torna grave, enzimas intracelulares, como lactato desidrogenase e aspartato aminotransferase, aparecem aumentadas na urina. Conforme a lesão evolui, a reabsorção tubular dos solutos e da água diminui.

Mudanças na morfologia e na função mitocondrial são eventos precoces que aparecem logo após a administração de $HgCl_2$, dando suporte à hipótese de que a disfunção mitocondrial é um indicador precoce e significativo para a morte celular induzida por mercúrio inorgânico no túbulo proximal.

Cádmio O cádmio tem uma meia-vida acima de 10 anos em humanos e, dessa forma, acumula-se no organismo ao longo do tempo. Aproximadamente 50% da carga de cádmio no corpo humano pode ser encontrada nos rins. Produz disfunção tubular proximal e lesão que pode evoluir para nefrite intersticial crônica.

Nefropatia de globulina α_{2u} quimicamente induzida

Diversos compostos químicos, incluindo gasolina livre de chumbo, D-limoneno, diclorobenzeno 1.4, decalina, tetracloroetileno e lindano, causam nefropatia por globulina α_{2u} ou nefropatia por gotículas hialinas em ratos machos. A ligação a globulina α_{2u} diminui a quebra de proteases lisossômicas de globulina α_{2u}. A exposição crônica a esses compostos resulta em evolução das lesões e, por fim, em nefropatia crônica.

Os seres humanos não correm risco porque (1) não sintetizam a globulina α_{2u}, (2) secretam menos proteínas em geral e menos proteínas de baixo peso molecular na urina do que os ratos, em particular, e (3) as proteínas de baixo peso molecular na urina humana não se relacionam estruturalmente à globulina α_{2u}.

Hidrocarbonetos halogenados

Humanos estão expostos a hidrocarbonetos halogenados em locais de trabalho e no meio ambiente.

Clorofórmio O alvo celular primário do clorofórmio é o túbulo proximal, sem lesão primária ao glomérulo ou ao túbulo distal. Proteinúria, glicosúria e aumento dos níveis de BUN são características de nefrotoxicidade induzida por clorofórmio. A nefrotoxicidade produzida por clorofórmio está ligada a seu metabolismo pelo citocromo renal P450, que biotransforma o clorofórmio em triclorometanol, o qual é instável e libera HCl para formar fosgênio, o qual reage de forma danosa com macromoléculas celulares.

Tetrafluoretileno O tetrafluoretileno é conjugado com a glutationa no fígado, e o conjugado GSH é secretado na bile e no intestino delgado, onde é degradado em conjugado S-cisteína (TFEC), reabsorvido e transportado para os rins. Embora diversos metabólitos sejam formados, o conjugado S-cisteína é o penúltimo nefrotoxicante. Após o transporte para o túbulo proximal, o conjugado S-cisteína é um substrato para as formas citosólicas e mitocondriais da enzima cisteína conjugada β-liase. Os produtos da reação são amônia, piruvato e um tiol reativo capaz de fazer ligação covalente com macromoléculas celulares, causando lesão

celular. Funcionalmente, aumentos na glicose urinária, proteínas, enzimas celulares e BUN são observados.

Bromobenzeno A biotransformação do bromobenzeno e de outros benzenos halogenados é essencial para sua nefrotoxicidade. O citocromo hepático P450 metaboliza o bromobenzeno e conjuga-o com a glutationa, liberando-o em uma forma que pode causar nefrotoxicidade. O conjugado diglutationa da hidroquinona é aproximadamente mil vezes mais potente do que o bromobenzeno para a produção de nefrotoxicidade, gerando as mesmas alterações patológicas no segmento S_3 e aumentando a quantidade de proteína, glicose e enzimas celulares na urina.

Micotoxinas

As micotoxinas são produtos de mofo e fungos e costumam ser encontradas em milho e seus derivados. As fumonisinas B1 e B2 são micotoxinas comuns conhecidas pela produção de nefrotoxicidade em ratos e coelhos. As alterações em funções renais incluem aumento no volume de urina, diminuição da osmolalidade e aumento da excreção de proteínas de alto e baixo peso molecular. As fumonisinas podem produzir sua toxicidade por meio da interferência com o metabolismo esfingolipídico.

Agentes terapêuticos

Paracetamol A nefrotoxicidade por paracetamol é caracterizada pela necrose tubular proximal com aumentos no BUN e na creatinina plásmica, diminuições na TFG e *clearance* do para-aminohipurato, aumentos na excreção fracional de água, sódio e potássio, além de aumentos de glicose, proteínas e enzimas da bordadura em escova na urina. Embora o citocromo renal P450 atue na ativação do paracetamol e na nefrotoxicidade, os conjugados de glutationa do paracetamol também podem contribuir para sua nefrotoxicidade.

Fármacos anti-inflamatórios não esteroides Ao menos três tipos diferentes de nefrotoxicidade foram associados com a administração de AINEs. A IRA pode ocorrer dentro de horas a partir de uma alta quantidade de AINEs, sendo normalmente reversível com a suspensão da administração e caracterizada pela diminuição do FSR e da TFG, além de oligúria. Quando a produção normal de prostaglandinas vasodilatadoras é inibida por AINEs, a vasoconstrição causada por catecolaminas circulantes e angiotensina II fica sem resistência, resultando em diminuição do FSR e isquemia.

No entanto, o consumo crônico de AINEs e/ou paracetamol por um período superior a 3 anos resulta em nefrotoxicidade frequentemente irreversível, conhecida como nefropatia analgésica. A lesão primária nessa nefropatia é a necrose papilar com nefrite intersticial crônica. O mecanismo pelo qual os AINEs produzem nefropatia analgésica não é conhecido, mas pode resultar de isquemia papilar/medular crônica, secundária à vasoconstrição renal, ou gênese de um intermediário reativo que, por sua vez, inicia um estresse oxidativo ou faz ligação covalente com macromoléculas celulares críticas.

O terceiro, embora raro, tipo de nefrotoxicidade associado com AINEs é a nefrite intersticial. Os pacientes normalmente apresentam um nível elevado de creatinina sérica e proteinúria. Se a administração de AINEs for suspensa, a função renal melhora entre 1 e 3 meses.

Aminoglicosídeos

A disfunção renal por aminoglicosídeos é caracterizada por insuficiência renal não oligúrica com TFG reduzida, aumento na creatinina sérica e BUN e poliúria. A primeira lesão observada após doses clinicamente relevantes de aminoglicosídeos é um aumento no tamanho e no número de lisossomos, que contêm fosfolipídeos. Considera-se que a fosfolipidose renal produzida pelos aminoglicosídeos ocorre por meio de sua inibição de hidrolases lisossômicas, como esfingomielinase e fosfolipases.

Anfotericina B A anfotericina B é um agente antifúngico eficaz causador de nefrotoxicidade caracterizada por poliúria resistente a ADH, acidose tubular renal, hipocalemia e insuficiência renal tanto aguda como crônica. A integridade funcional do glomérulo e das porções distal e proximal do néfron fica prejudicada, conduzindo a diminuições do FSR secundariamente à vasoconstrição arteriolar renal ou à ativação do *feedback* tubulogromerular.

Ciclosporina A nefrotoxicidade causada por ciclosporina pode se manifestar como (1) disfunção renal aguda reversível, (2) vasculopatia aguda e (3) nefropatia crônica com fibrose intersticial. A disfunção renal aguda é caracterizada por diminuições relacionadas à dosagem no FSR e na TFG e aumentos no BUN e na creatinina sérica. A diminuição no FSR e na TFG está relacionada à marcada vasoconstrição induzida por ciclosporina.

A vasculopatia aguda ou microangiopatia trombótica pós-tratamento com ciclosporina afeta as arteríolas e os capilares glomerulares, sem componente inflamatório. A lesão consiste em trombos de fibrinas e plaquetas e hemácias fragmentadas ocluindo os vasos. Tratamentos a longo prazo com ciclosporina podem resultar em nefropatia crônica com fibrose intersticial.

Cisplatina A nefrotoxicidade por cisplatina inclui insuficiência renal crônica e aguda, diminuição do magnésio renal e poliúria. Os pacientes tratados com cisplatina perdem permanentemente de 10 a 30% de sua função renal. A IRA é caracterizada por diminuições do FSR e da TFG, enzimúria, microglobulinúria β_2 e perdas urinárias de magnésio impróprias. O alvo celular primário associado à IRA é o túbulo proximal. A insuficiência renal crônica observada com a cisplatina deve-se à exposição prolongada e é caracterizada por necrose focal em inúmeros segmentos do néfron sem um efeito significativo sobre o glomérulo. A cisplatina pode produzir nefrotoxicidade por meio de sua capacidade de inibir a síntese do DNA, assim como das funções de transporte.

Agentes de radiocontraste Meios de contraste por iodo utilizados para obtenção de imagens de tecidos apresentam uma osmolalidade muito alta (> 1.200 mOsm/L) e são potencialmente nefrotoxicantes, sobretudo em pacientes com problemas renais preexistentes, diabetes ou insuficiência cardíaca que estejam recebendo fármacos nefrotóxicos. Os mais novos agentes de contraste não iônicos (p. ex., iotrol e iopamidol) apresentam menor nefrotoxicidade. A nefrotoxicidade desses agentes deve-se a alterações hemodinâmicas (vasoconstrição) e lesão tubular (via ROS).

REFERÊNCIAS

Brenner BM, Rector FC (eds): *Brenner and Rector's The Kidney*, 8th ed. Philadelphia: Saunders Elsevier, 2008.

Fogo AB, Kashgarian M: *Diagnostic Atlas of Renal Pathology: A Companion to Brenner and Rector's The Kidney*, 7th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005.

Schrier RW (ed): *Diseases of the Kidney and Urinary Tract*, 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2007.

Tarloff JB, Lash LH (eds): *Toxicology of the Kidney*, 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005.

QUESTÕES

1. Os rins são responsáveis por todos os processos que seguem, EXCETO:
   a. Síntese de renina
   b. Equilíbrio acidobásico
   c. Reabsorção de eletrólitos
   d. Regulação de fluido extracelular
   e. Liberação de angiotensina

2. Qual das seguintes opções NÃO contribui para formação do filtrado no néfron?
   a. Pressão hidrostática capilar
   b. Carga positiva da membrana capilar glomerular
   c. Permeabilidade hidráulica da membrana capilar glomerular
   d. Pressão oncótica coloide
   e. Tamanho das fendas de filtração

3. Qual das seguintes opções NÃO é característica da alça de Henle?
   a. Há reabsorção de Na^+ e K^+ filtrados.
   b. O fluido tubular no ramo descendente delgado é iso-osmótico ao interstício renal.
   c. A água é livremente permeável no ramo ascendente delgado.
   d. Na^+ e Cl^- são reabsorvidos no ramo ascendente delgado.
   e. O ramo ascendente espesso é impermeável à água.

4. Os rins constituem 0,5% da massa corpórea total e recebem aproximadamente que quantidade do débito cardíaco em repouso?
   a. 0,5 a 1%
   b. 5%
   c. 10%
   d. 20 a 25%
   e. 50 a 60%

5. Qual entre as seguintes opções tem mais chances de ocorrer após uma agressão tóxica aos rins?
   a. A TFG diminui no rim não afetado.
   b. A integridade da junção oclusiva aumenta no néfron.
   c. As células não afetadas passam por atrofia e proliferação.
   d. Os exames clínicos provavelmente mostram função renal normal.
   e. O equilíbrio glomerotubular é perdido.

6. A insuficiência renal crônica normalmente não resulta em:
   a. Diminuição na TFG de néfrons viáveis
   b. Glomeruloesclerose
   c. Atrofia tubular
   d. Pressões glomerulares aumentadas
   e. Permeabilidade capilar alterada

7. Todas as seguintes afirmações relativas à toxicidade renal são verdadeiras, EXCETO:
   a. A concentração de toxicantes em fluido tubular aumenta a possibilidade de difusão dos toxicantes pelas células tubulares.
   b. Fármacos na circulação sistêmica passam para os rins em quantidades relativamente altas.
   c. O túbulo convoluto distal é o local mais comum em que ocorre a insuficiência renal causada por substâncias tóxicas.
   d. A deposição de complexos imunes dentro dos glomérulos pode causar glomerulonefrite.
   e. Antibióticos e/ou antifúngicos afetam o funcionamento do néfron em múltiplos lugares.

8. Qual dos resultados de exames a seguir NÃO faz par correto com o problema renal correspondente?
   a. Aumento do volume de urina – problema na síntese de ADH
   b. Glicosúria – problema na reabsorção no túbulo convoluto proximal
   c. Proteinúria – lesão glomerular
   d. Proteinúria – lesão tubular proximal
   e. Enzimúria com bordadura em escova – glomerulonefrite

9. A lesão celular renal NÃO costuma ser mediada por qual dos seguintes mecanismos?
   a. Perda da integridade da membrana
   b. Prejuízo da função mitocondrial
   c. Aumento na concentração de Ca^{2+} citosólico
   d. Aumento da atividade de Na^+, K^+ –ATPase
   e. Ativação de caspase

10. Qual das seguintes afirmações é FALSA em relação aos nefrotoxicantes?
    a. A intoxicação por mercúrio pode levar a necrose tubular proximal e insuficiência renal aguda.
    b. A cisplatina pode causar nefrotoxicidade por causa de sua capacidade de inibir a síntese do DNA.
    c. O consumo crônico de AINEs resulta em nefrotoxicidade reversível ao longo do tempo.
    d. A nefrotoxicidade por anfotericina B pode provocar poliúria resistente a ADH.
    e. O paracetamol torna-se nefrotoxicante pela ativação por citocromo renal P450.

CAPÍTULO

15

Respostas Tóxicas do Sistema Respiratório

Hanspeter R. Witschi, Kent E. Pinkerton, Laura S. Van Winkle e Jerold A. Last

ESTRUTURA E FUNÇÃO PULMONAR
- Passagens nasais
- Vias de condução aéreas
- Região de trocas gasosas
- Trocas gasosas
  - Ventilação
  - Perfusão
  - Difusão
- Distribuição da competência metabólica no sistema respiratório

PRINCÍPIOS GERAIS NA PATOGÊNESE DA LESÃO PULMONAR CAUSADA POR SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS
- Inalantes tóxicos, gases e dosimetria
- Deposição e *clearance* de partículas
- Dimensão das partículas
- Nanotoxicologia
- Mecanismos de deposição/sedimentação
- *Clearance* de partículas
  - *Clearance* nasal
  - *Clearance* traqueobrônquica
  - *Clearance* pulmonar

RESPOSTAS AGUDAS DOS PULMÕES A LESÕES
- Mecanismos de danos ao sistema respiratório
- Sobrecarga oxidativa
- Reatividade das vias aéreas
- Edema pulmonar
- Proliferação celular

RESPOSTAS CRÔNICAS DOS PULMÕES A LESÕES
- Enfisema
- Fibrose
- Asma
- Câncer pulmonar
- Os pulmões em desenvolvimento

AGENTES CONHECIDOS COMO PRODUTORES DE LESÃO PULMONAR EM HUMANOS
- Agentes tóxicos presentes no ar que produzem lesão pulmonar em humanos
  - Sobrecarga pulmonar causada por partículas
  - Oxigênio
- Agentes tóxicos presentes no sangue que causam toxicidade pulmonar em humanos
  - Paraquat
  - Monocrotalina
  - Bleomicina
  - Ciclofosfamida e 1,3-bis-(2-cloroetil)-1-nitrosoureia (BCNU)
  - Fármacos catiônicos anfofílicos

AVALIAÇÃO DA LESÃO PULMONAR TÓXICA
- Sistemas de exposição por inalação
- Estudos de função pulmonar
- Técnicas morfológicas
- Lavagem pulmonar
- Métodos *in vitro*
  - Perfusão de pulmão isolado
  - Explantes e fatias de pulmão
  - Microdissecção
  - Sistema de cultura celular organotípicas
  - Populações de células pulmonares isoladas

PONTOS-CHAVE

- Após sua absorção, os xenobióticos inalados podem afetar diretamente o tecido pulmonar ou órgãos distantes.
- A hidrossolubilidade é um fator decisivo para determinar a profundidade de penetração pulmonar de um gás.
- O tamanho das partículas é um fator fundamental que determina a região do sistema respiratório na qual a partícula ou um aerossol pode sedimentar.
- Os pulmões contêm a maioria das enzimas envolvidas na biotransformação de xenobióticos identificadas em outros tecidos.
- A asma caracteriza-se por aumento da reatividade da musculatura lisa brônquica em resposta à exposição a irritantes.
- No enfisema, a destruição da área superficial na qual há troca de gases resulta em um pulmão distendido, hiperinflado, que já não troca oxigênio e dióxido de carbono de forma eficaz.

A exposição a substâncias químicas por meio da inalação pode afetar (1) o tecido pulmonar e (2) os órgãos distantes atingidos depois que a substância entra no organismo por meio da inalação. Sem dúvida, o termo *toxicologia por inalação* refere-se à via de exposição, enquanto *toxicologia do sistema respiratório* refere-se à toxicidade em um órgão-alvo, isto é, às alterações anormais provocadas no sistema respiratório pelas substâncias tóxicas. O tecido pulmonar pode ser lesionado direta ou secundariamente por produtos metabólicos de compostos orgânicos. Entretanto, o efeito mais importante de muitos inalantes tóxicos é dar lugar a uma carga oxidativa inapropriada nos pulmões.

ESTRUTURA E FUNÇÃO PULMONAR

Passagens nasais

O ar ingressa no sistema respiratório por meio das regiões nasal e oral (Fig. 15.1). A passagem nasal funciona como um filtro para partículas. Gases altamente hidrossolúveis são absorvidos de maneira eficiente na via nasal, que vai da narina até a faringe. Também, o epitélio nasal pode biotransformar compostos estranhos. Isoenzimas do citocromo P450 foram localizadas nas narinas de várias espécies.

Vias de condução aéreas

A traqueia e os brônquios estão cobertos com muco, que aprisiona poluentes e detritos. A ação dos cílios do sistema respiratório é a de empurrar continuamente a camada de muco em direção à faringe, na qual ela é removida do sistema respiratório por deglutição ou expectoração. A camada de muco também parece realizar atividade antioxidante, neutralizante de ácido e sequestro de radicais livres, o que protege as células epiteliais.

As vias de condução aérea têm uma estrutura bifurcada característica, com diâmetro interno progressivamente menor. No fim, alcança-se uma região de transição na qual os brônquios cartilaginosos dão lugar a bronquíolos não cartilaginosos, que, por sua vez, dão acesso às regiões de trocas gasosas, aos bronquíolos respiratórios e aos alvéolos.

Região de trocas gasosas

Uma unidade ventiladora é a região anatômica que inclui todos os ductos alveolares e alvéolos distais a cada junção bronquíolo-ducto alveolar; representa o menor denominador comum quando se modela a distribuição do gás inalado com a superfície de troca gasosa dos pulmões. A troca gasosa ocorre nos alvéolos. Estima-se que pulmões de humanos adultos tenham 300 milhões de alvéolos. No interior do septo alveolar, os capilares estão organizados em camadas simples. Os capilares estão separados do espaço aéreo por uma fina camada de tecido formado por componentes epiteliais, intersticiais e endoteliais.

As células alveolares dos tipos I e II representam aproximadamente 25% de todas as células no septo alveolar (Fig. 15.2). As células do tipo I cobrem uma ampla superfície. As células do tipo II são cuboides, têm citoplasma perinuclear abundante, produzem surfactante e, em caso de lesão ao epitélio do tipo I, podem sofrer divisão mitótica e repor as células lesadas.

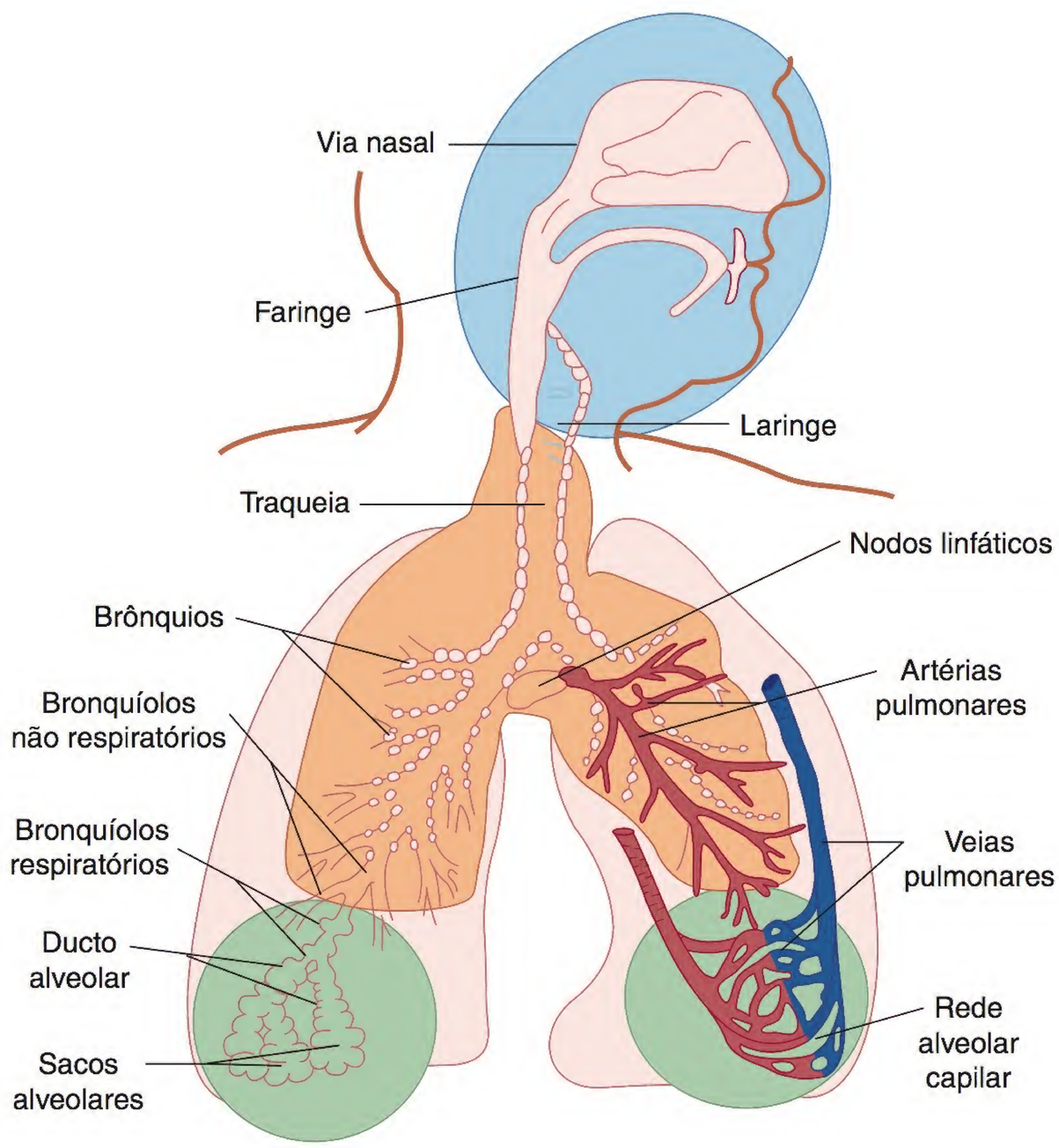
O interstício mesenquimal consiste em fibroblastos que produzem colágeno, elastina, outros componentes matriciais e várias moléculas efetoras. Pericitos, monócitos e linfócitos também residem no interstício, bem como macrófagos, antes de entrarem nos alvéolos. As células claras localizam-se nos bronquíolos terminais e têm elevado conteúdo de enzimas biotransformadoras de xenobióticos.

Trocas gasosas

A principal função dos pulmões é a troca de gases, que consiste em ventilação, perfusão e difusão.

Ventilação Durante a inalação, o ar fresco move-se para os pulmões pelo sistema respiratório superior e pelas vias de condução aérea em direção à unidade respiratória terminal. Após a difusão do oxigênio para o sangue e de CO_2 do sangue para o espaço alveolar, o ar (agora rico em CO_2) é expelido por exalação.

O volume total de ar em um pulmão humano inflado representa a capacidade pulmonar total (CPT). Após o máximo de expiração, o pulmão retém um volume residual (VR). O volume de ar movido para dentro e para fora dos pulmões com o movimento inspiratório e expiratório máximos é denominado capacidade



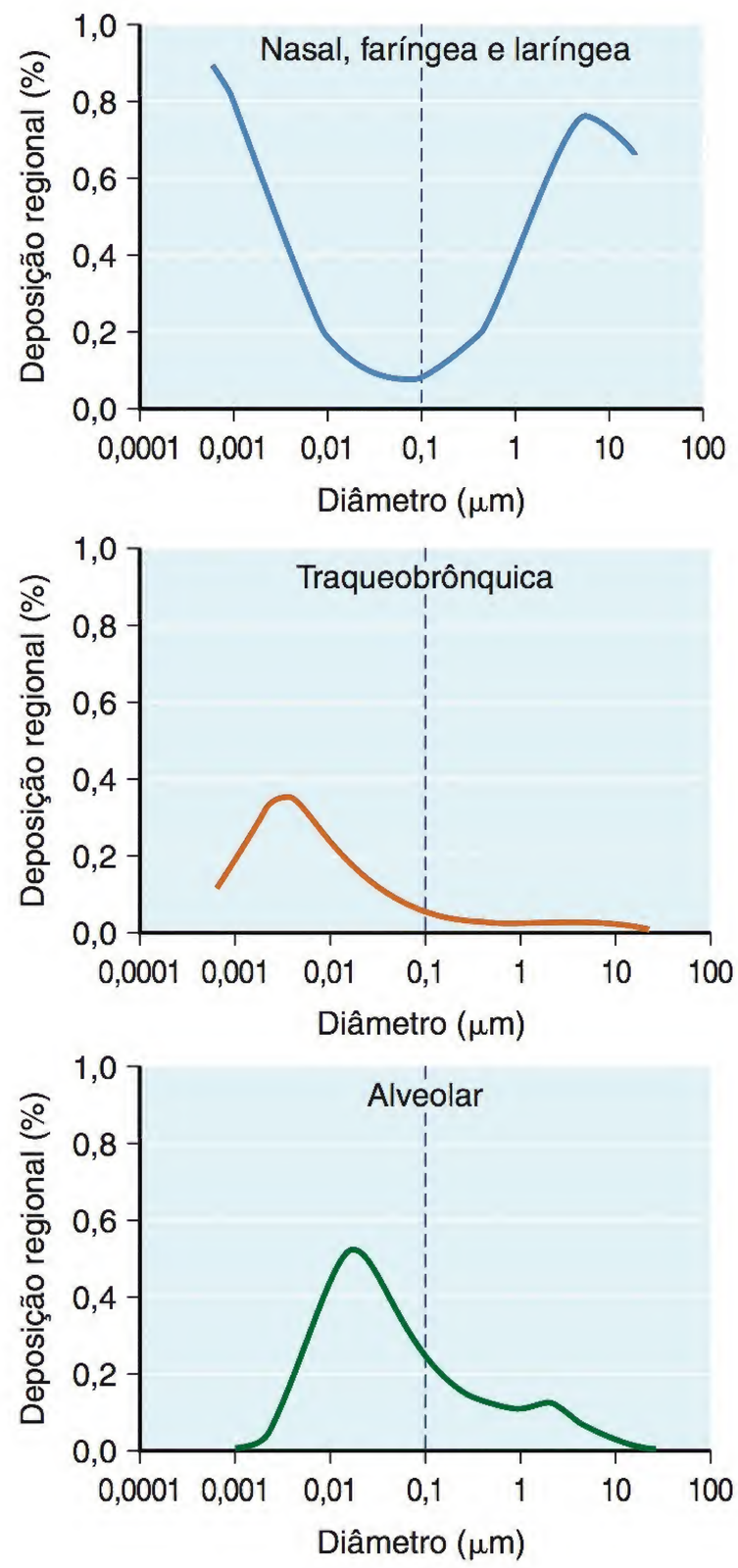


FIGURA 15.1 Predição de deposição fracionada de partículas inaladas nas regiões nasofaríngea, traqueobrônquica e alveolar do sistema respiratório humano durante a respiração nasal. Com base nos resultados da Comissão Internacional em Proteção Radiológica (1994). (Desenho cortesia de J. Harkema.) (Da Figura 8 de Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J: Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 113(7):823-839, 2005.)

vital (CV). Sob condição de repouso, a fração do VR que se move para dentro e para fora dos pulmões é denominada volume tidal (VT) (Fig. 15.3). Se um aumento da demanda metabólica do organismo requer a oferta aumentada de oxigênio, o VT e a frequência respiratória podem ser aumentados significativamente.

Perfusão Os pulmões recebem todo o débito do ventrículo direito e, assim, podem ser expostos a quantidades elevadas de substâncias tóxicas transportadas pelo sangue. Uma substância que ingressa no sistema venoso periférico tem contato com a rede capilar pulmonar antes de ser distribuída a outros órgãos e tecidos corporais.

Difusão As trocas gasosas ocorrem em toda a superfície alveolar. Uma variedade de processos anormais pode espessar o septo alveolar e afetar, de forma adversa, a difusão de oxigênio para os eritrócitos. Eventos agudos podem incluir o acúmulo de líquido ou células inflamatórias no espaço alveolar. A toxicidade crônica pode prejudicar a difusão devido ao aumento anormal na formação e no depósito de substâncias extracelulares, tais como o colágeno no interstício, ou por meio do acúmulo intersticial de líquido de edema.

Distribuição da competência metabólica no sistema respiratório

As substanciais capacidades dos tecidos pulmonares e nasais para ativação metabólica e detoxificação estão concentradas em poucos tipos de células, as quais têm distribuição definida, e algumas vezes limitada, no sistema respiratório. As enzimas do sistema citocromo P450 monoxigenase estão concentradas nas células bronquiolares não ciliadas (Claras), nas células tipo II, nos macrófagos e nas células endoteliais. Outras enzimas presentes no tecido pulmonar incluem epóxido hidrolases, flavina monooxigenases, prostaglandina sintetases, glicuronosiltransferases, sulfotransferases e glutationa S-transferases.

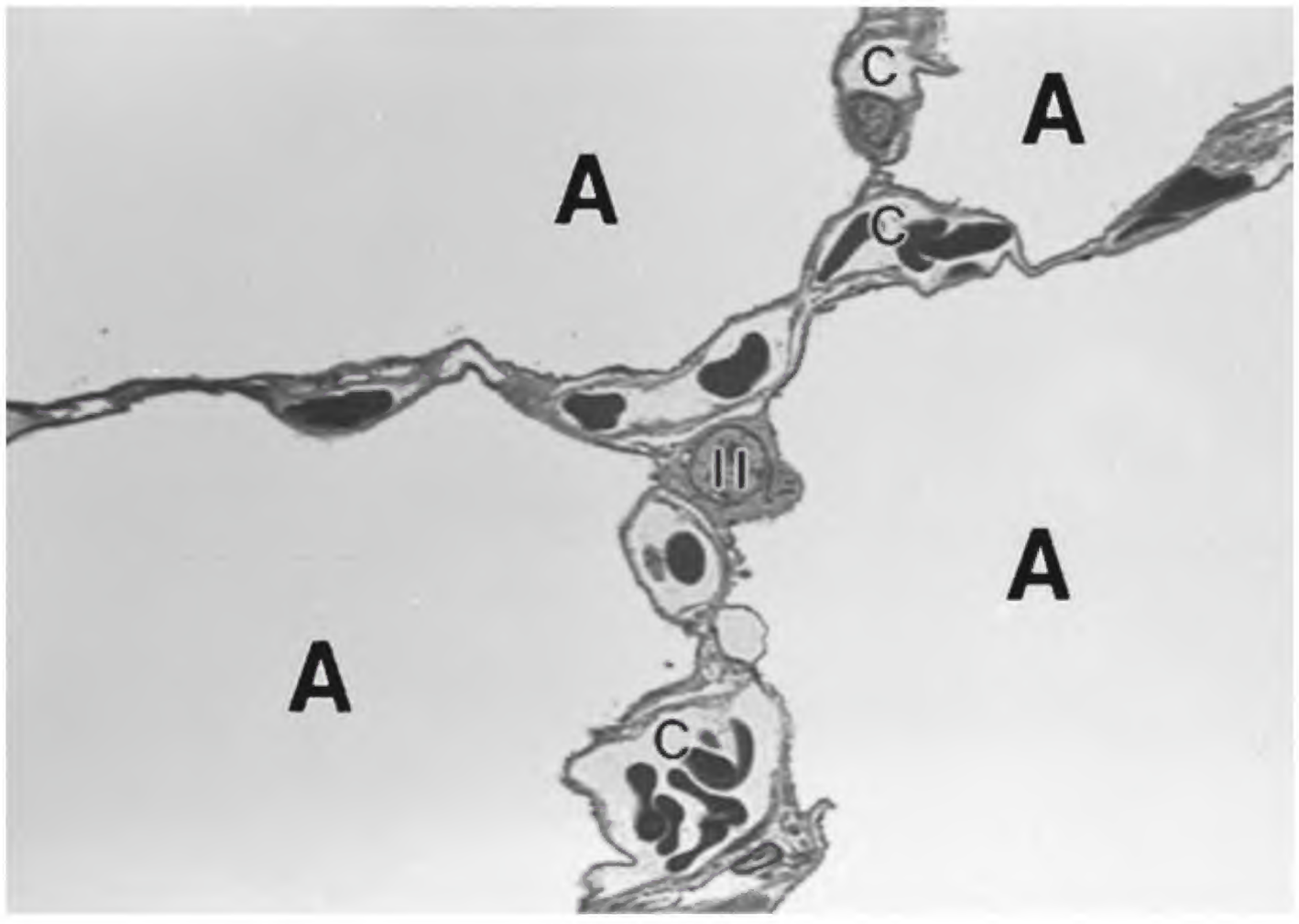


FIGURA 15.2 Micrográfico de quatro alvéolos (A) separados pelo septo alveolar. A delgada barreira tissular ar-sangue da parede septal alveolar é composta de células alveolares escamosas tipo I e ocasionalmente tipo II e tipo III, um espaço intersticial pequeno e o citoplasma reduzido das células endoteliais que formam a parede dos capilares (C). (Foto cortesia de Dr. Kent E. Pinkerton, University of California, Davis.)

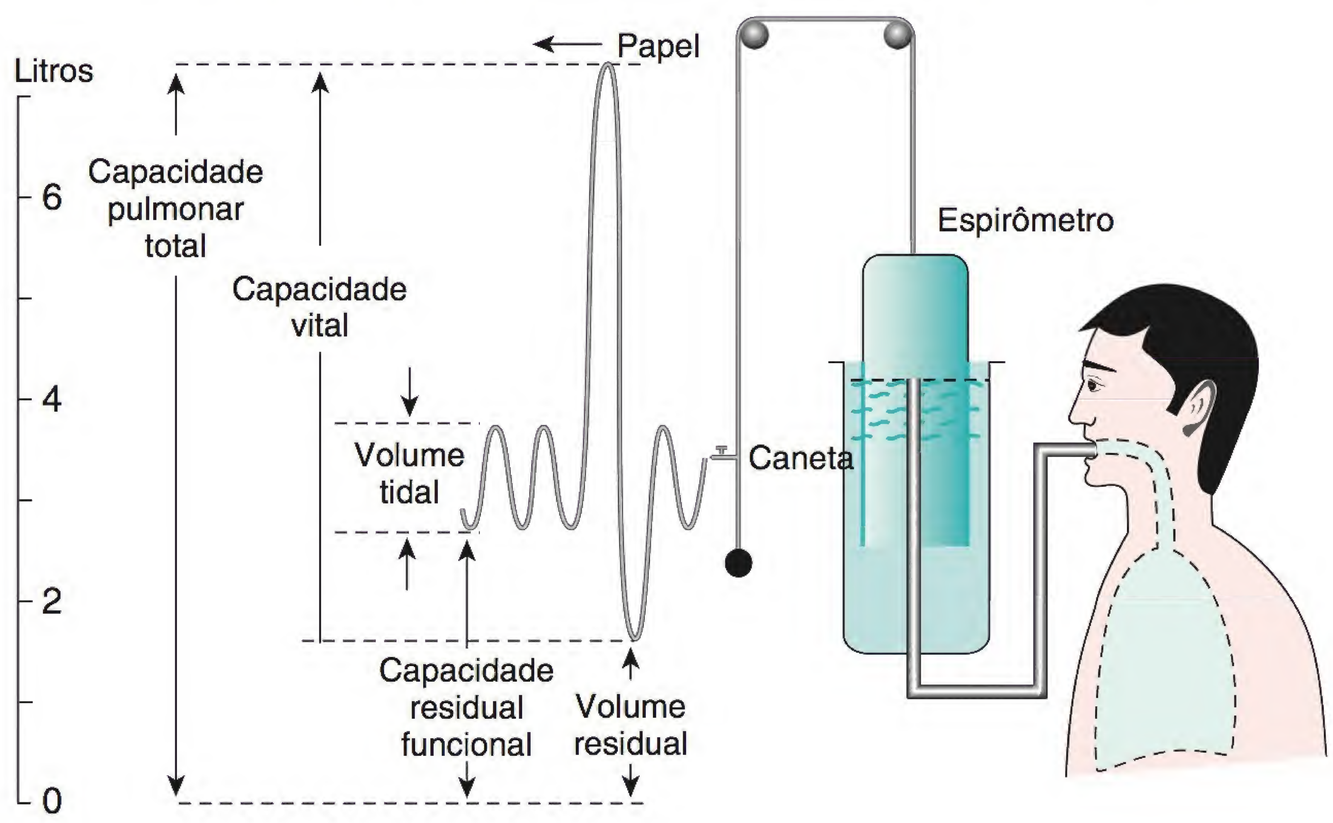


FIGURA 15.3 Volumes pulmonares. Observe que a capacidade residual funcional e o volume residual não podem ser mensurados com o espirômetro, mas exigem procedimentos especiais (p. ex., lavagem com nitrogênio ou hélio).

PRINCÍPIOS GERAIS NA PATOGÊNESE DA LESÃO PULMONAR CAUSADA POR SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS

Inalantes tóxicos, gases e dosimetria

O local de sedimentação das substâncias tóxicas no sistema respiratório define o padrão de sua toxicidade. A hidrossolubilidade é fator fundamental para determinar a profundidade que um determinado gás penetra nos pulmões. Gases altamente solúveis como o SO_2 não penetram além do nariz e, por isso, são relativamente não tóxicos aos animais. Gases relativamente insolúveis como o ozônio e o NO_2 penetram profundamente nos pulmões e alcançam as vias aéreas mais delgadas e os alvéolos, onde podem causar, então, respostas tóxicas. Gases muito insolúveis como o CO e o H_2S passam através do sistema respiratório com eficiência e, então, são captados pelo sangue pulmonar e distribuídos pelo organismo.

Deposição e *clearance* de partículas

A dimensão da partícula é geralmente o fator que determina a região do sistema respiratório na qual ela ou um aerossol se depositará.

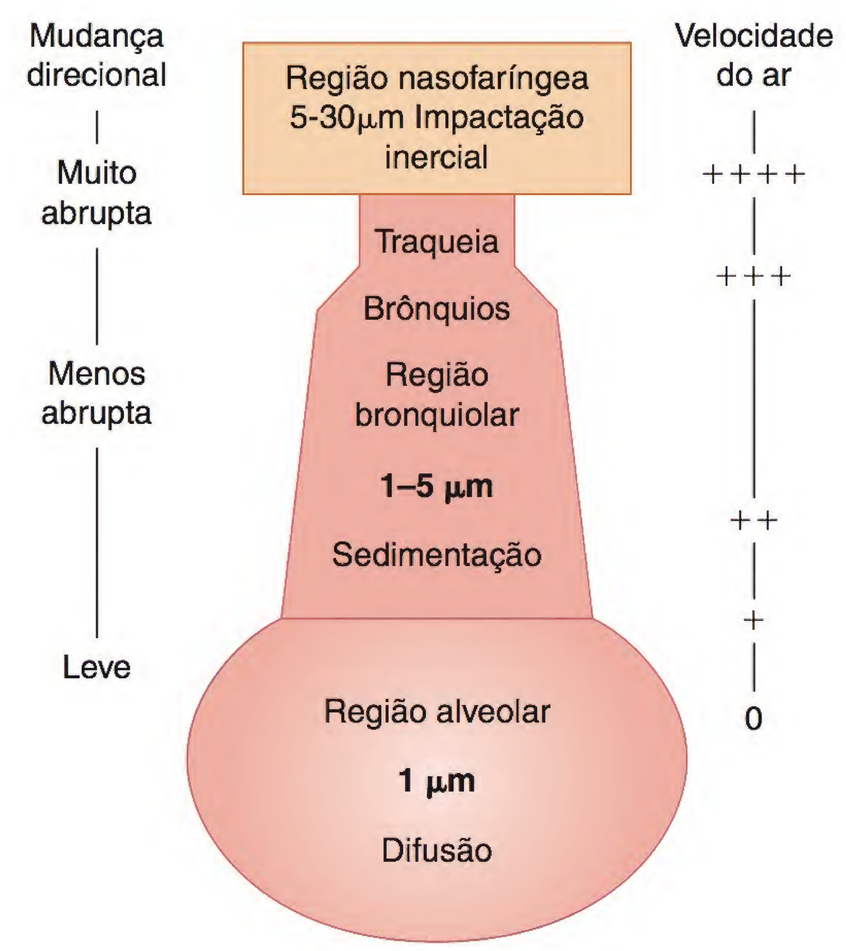


FIGURA 15.4 Variáveis que influenciam a sedimentação de partículas. (Casarett LJ: *The Vital Sacs: Alveolar Clearance Mechanisms in Inhalation Toxicology*. Volume 3 em Blood FR (ed): *Essays in Toxicology*. New York: Academic Press, 1972, com permissão.)

Dimensão das partículas

As partículas maiores, em geral, distribuem-se nas passagens aéreas superiores, e as menores costumam ser transportadas até os alvéolos (Fig. 15.4). Os padrões de respiração podem alterar o local de sedimentação de uma partícula de determinado tamanho. O formato e a densidade das partículas também podem interferir na distribuição. Os aerossóis inalados são, na maioria das vezes, mais polidispersos em relação ao tamanho.

Nanotoxicologia

As nanopartículas (diâmetro < 100 nm) são usadas atualmente em produtos manufaturados, aumentando sua liberação no ambiente e expondo os indivíduos a quantidades significativas. A preocupação toxicológica com as nanopartículas reflete três principais aspectos: (1) a enorme relação entre área e massa, com relação à adsorção de copoluentes e a presença de metais reativos em sua superfície; (2) a possibilidade de que nanotubos produzidos comercialmente possam ser mais tóxicos do que as nanopartículas esféricas; e (3) a preocupação em relação às defesas do hospedeiro serem ou não eficazes contra partículas tão pequenas.

Mecanismos de deposição/sedimentação

A deposição de partículas ocorre principalmente por interceptação, impacto, sedimentação e difusão (movimento Browniano). A interceptação ocorre quando a trajetória da partícula a leva para a proximidade da superfície de modo que a partícula contate a superfície celular. Como resultado da inércia, as partículas suspensas no ar tendem a continuar seu deslocamento ao longo do trajeto original. Nas mudanças de fluxo aéreo, como ocorre nas bifurcações das vias aéreas, a partícula pode chocar-se na superfície.

A sedimentação causa a deposição nos brônquios menores, nos bronquíolos e nos espaços alveolares. Conforme a partícula se move para o interior com o ar, a sustentação e a resistência do ar atuam sobre a partícula em direção superior, enquanto a gravidade atua em direção ao interior. Por fim, a força gravitacional equilibra-se com a soma da sustentação e a resistência do ar, e a partícula se sedimenta com uma velocidade constante, conhecida como a velocidade de sedimentação terminal.

A difusão é importante na deposição de partículas submicrométricas. Um movimento aleatório é imposto a essas partículas pelo impacto com as moléculas de gás.

O padrão respiratório é um fator importante na deposição de partículas. Durante uma respiração lenta, a maior proporção das partículas inaladas pode ser exalada. Durante exercícios, quando são inalados volumes maiores em alta velocidade, a deposição nas vias aéreas aumenta. Prender a respiração também aumenta a deposição. Fatores que modificam o diâmetro das vias aéreas de condução podem alterar a deposição de partículas. Em pacientes com bronquite crônica, a camada de muco está muito engrossada e estendida perifericamente e, por isso, pode bloquear parcialmente as vias aéreas em algumas áreas. Jatos formados pelo ar que flui por essas vias aéreas parcialmente ocluídas têm o potencial de aumentar a deposição de partículas.

Clearance de partículas

A eliminação das partículas depositadas é um aspecto importante da defesa pulmonar. A remoção rápida diminui o tempo disponível para causar lesão ao tecido pulmonar ou permite a absorção local. As partículas são eliminadas para (1) o estômago e o sistema digestório (TGI); (2) os nodos linfáticos e a linfa, nos quais podem ser dissolvidos e entrar na circulação venosa; ou (3) os vasos pulmonares. É importante enfatizar que o *clearance* das partículas do sistema respiratório não é sinônimo de eliminação do organismo.

***Clearance* nasal** As partículas depositadas nas narinas são eliminadas por vários mecanismos, dependendo do local de deposição e da solubilidade no muco. As partículas depositadas na parte mais anterior são removidas por ações extrínsecas, como limpeza ou ato de assoar o nariz. As outras regiões das narinas são cobertas amplamente por um epitélio mucociliar que impele o muco em direção à glote, na qual ele acaba sendo deglutido.

***Clearance* traqueobrônquica** A camada mucosa que cobre a árvore traqueobrônquica move-se para cima pelo bater dos cílios subjacentes. Esse transporte mucociliar ascendente transporta as partículas depositadas e os macrófagos carregados de partículas para a orofaringe, na qual são deglutidos e passam pelo TGI.

***Clearance* pulmonar** Há várias vias primárias pelas quais o material particulado é removido do sistema respiratório inferior logo que é depositado:

1. As partículas podem ser aprisionadas diretamente na camada de muco das vias aéreas por impactação e transportadas para cima, na árvore traqueobrônquica, por meio do sistema mucociliar.
2. As partículas podem ser fagocitadas por macrófagos e eliminadas por meio do sistema de transporte mucociliar.
3. As partículas podem ser fagocitadas pelos macrófagos alveolares e removidas por drenagem linfática.
4. Os materiais podem se dissolver a partir da superfície das partículas e ser removidos pela circulação sanguínea ou linfática.
5. As partículas pequenas podem penetrar diretamente nas membranas epiteliais.
6. As partículas insolúveis, em especial as fibras finas e longas, podem ser sequestradas nos pulmões por períodos muito longos, frequentemente por meio dos macrófagos localizados no interstício.

RESPOSTAS AGUDAS DOS PULMÕES A LESÕES

Mecanismos de danos ao sistema respiratório

As substâncias presentes no ar podem atingir as células do sistema respiratório desde as narinas até a região de trocas gasosas. Certos gases e vapores estimulam terminações nervosas no nariz, particularmente aquelas do nervo trigêmeo. O resultado é o de prender a respiração ou alterar seu padrão, para evitar ou diminuir exposição adicional. Se a exposição continuada não consegue ser evitada, vários irritantes ácidos ou alcalinos provocam necrose e aumentam a permeabilidade das paredes alveolares. Outras substâncias inaladas podem ser mais insidiosas; a inalação de concentrações elevadas de HCl, NO_2, NH_3 ou fosgênio pode produzir inicialmente poucas lesões aparentes no sistema respiratório. A barreira epitelial na zona alveolar, após um período de latência de várias horas, começa a vazar, inundando o alvéolo e produzindo edema pulmonar tardio, que é, frequentemente, fatal.

Um mecanismo patogênico distinto é típico de moléculas altamente reativas, como o ozônio. É improvável que o ozônio, como tal, penetre além da camada de líquidos que cobre as células pulmonares, mas as lesões por ele provocadas se propagam com os produtos de uma cascata de reações secundárias e por espécies reativas de oxigênio que se originam dessas reações de radicais livres.

A biotransformação de compostos estranhos pode estar envolvida na patogênese das lesões pulmonares. Os pulmões contêm a maioria das enzimas envolvidas na biotransformação de xenobióticos que têm sido identificadas em outros tecidos. As enzimas microssomais identificadas nos pulmões incluem as do citocromo P450 1A1, 2B1, 2F1, 4B1 e 3A4, bem como citocromo P450 NADPH redutase, epóxido hidrolase e monoxigenases que contêm flavinas. Duas enzimas citosólicas importantes envolvidas na biotransformação pulmonar de xenobióticos são a glutationa *S*-transferase e a glutationa peroxidase.

Sobrecarga oxidativa

A sobrecarga oxidativa contribui para a lesão pulmonar e, muitas vezes, é mediada por radicais livres, como os gerados por ozônio, NO_2, fumaça de tabaco e pelas células de defesa pulmonar. Como essas espécies oxidativas são potencialmente citotóxicas, podem intermediar ou promover ações de pneumotoxicantes, tais como o paraquat e a nitrofurantoína. Quando ocorre uma lesão celular de qualquer tipo, a liberação de componentes celulares que normalmente estão confinados, como microssomas e flavoproteínas, para o espaço extracelular pode gerar espécies reativas de O_2 prejudiciais.

Neutrófilos, monócitos e macrófagos são, particularmente, adeptos da conversão de O_2 molecular em metabólitos O_2 reativos, provavelmente devido a sua atividade fagocítica e antimicrobiana. Como subproduto dessa capacidade, as espécies O_2 tóxicas são liberadas nos tecidos vizinhos. Como a maioria das formas de edema pulmonar tóxico são acompanhadas por acúmulo de fagócitos na microcirculação pulmonar (leucostase pulmonar) e no parênquima, a lesão oxidativa pode representar um componente significativo da lesão pulmonar pneumotóxica.

A produção fagocítica de espécies reativas de oxigênio causa a inativação de inibidores de proteinase e a degranulação de mastócitos.

O pulmão pode responder com mecanismos de defesa específicos que podem ser estimulados pela exposição constante a microrganismos presentes no ar, bem como a materiais antigênicos de baixo e alto peso molecular. O sistema imune pode montar respostas mediadas por células ou humores contra esses antígenos inalados. Efeitos imunológicos diretos ocorrem quando materiais estranhos inalados sensibilizam o sistema respiratório contra o mesmo material em exposições posteriores. Podem ocorrer broncoconstrição e doença pulmonar crônica pela inalação de materiais que parecem agir total ou parcialmente por meio de uma resposta alérgica.

Reatividade das vias aéreas

As vias aéreas calibrosas são circundadas por músculos lisos bronquiais, que auxiliam a manutenção do tônus e diâmetro da via durante a expansão e a contração dos pulmões. O tônus do músculo liso bronquial normalmente é regulado pelo sistema nervoso autonômo. A broncoconstrição pode ser provocada pela fumaça de cigarros e poluentes aéreos e por fármacos colinérgicos, como acetilcolina, histamina, várias prostaglandinas e leucotrienos, substância P e óxido nítrico. A broncoconstrição causa diminuição no diâmetro das vias aéreas e aumento correspondente na resistência ao fluxo aéreo. Os sintomas característicos associados incluem chiados, tosse, sensação de aperto no peito e dispneia. O exercício potencializa esses problemas. Como o principal componente da resistência das vias aéreas geralmente é devido aos brônquios de maior calibre, as substâncias químicas inaladas que causam broncoconstrição reflexa geralmente são gases irritantes com solubilidade moderada.

Edema pulmonar

O edema pulmonar tóxico representa uma lesão pulmonar aguda, exsudativa, que altera a relação ventilação-perfusão e limita a difusão de O_2 e CO_2 mesmo em um alvéolo estruturalmente normal.

Proliferação celular

Os efeitos de substâncias tóxicas nos pulmões podem ser reversíveis ou irreversíveis. Pulmões adultos normais são órgãos em que, sob condições normais, poucas células morrem e precisam ser substituídas. Lesado por uma substância tóxica, o parênquima pulmonar é capaz de reparar-se por si mesmo. A lesão de células do tipo I é seguida de proliferação de células epiteliais do tipo II que, por fim, transformam-se em novas células do tipo I; nas vias aéreas, as células Claras proliferam e dividem-se durante a lesão. A migração de células sanguíneas móveis, tais como leucócitos, pelos capilares pulmonares para o lúmen alveolar também pode iniciar a resposta mitótica. Outras células na zona alveolar, como as células capilares endoteliais, as células intersticiais e os macrófagos alveolares, também proliferam. O resultado é um órgão com aspecto normal, embora a proliferação excessiva de fibroblastos possa resultar em doença pulmonar. Em geral, os pulmões parecem ter alta capacidade de autorreparação e, assim, de lidar com os vários insultos tóxicos presentes no ambiente.

RESPOSTAS CRÔNICAS DOS PULMÕES A LESÕES

Enfisema

No enfisema, os pulmões tornam-se maiores e muito complacentes devido à destruição das paredes sem fibrose. A destruição da superfície que realiza troca de gases resulta em pulmões distendidos, hiperinflados, que não mais trocam oxigênio e dióxido de carbono com eficácia em consequência da perda de tecido e retenção de ar (Fig. 15.5). A principal causa de enfisema humano é a inalação de fumaça de cigarros, ainda que outras substâncias tóxicas também possam provocar esse efeito. A ca-

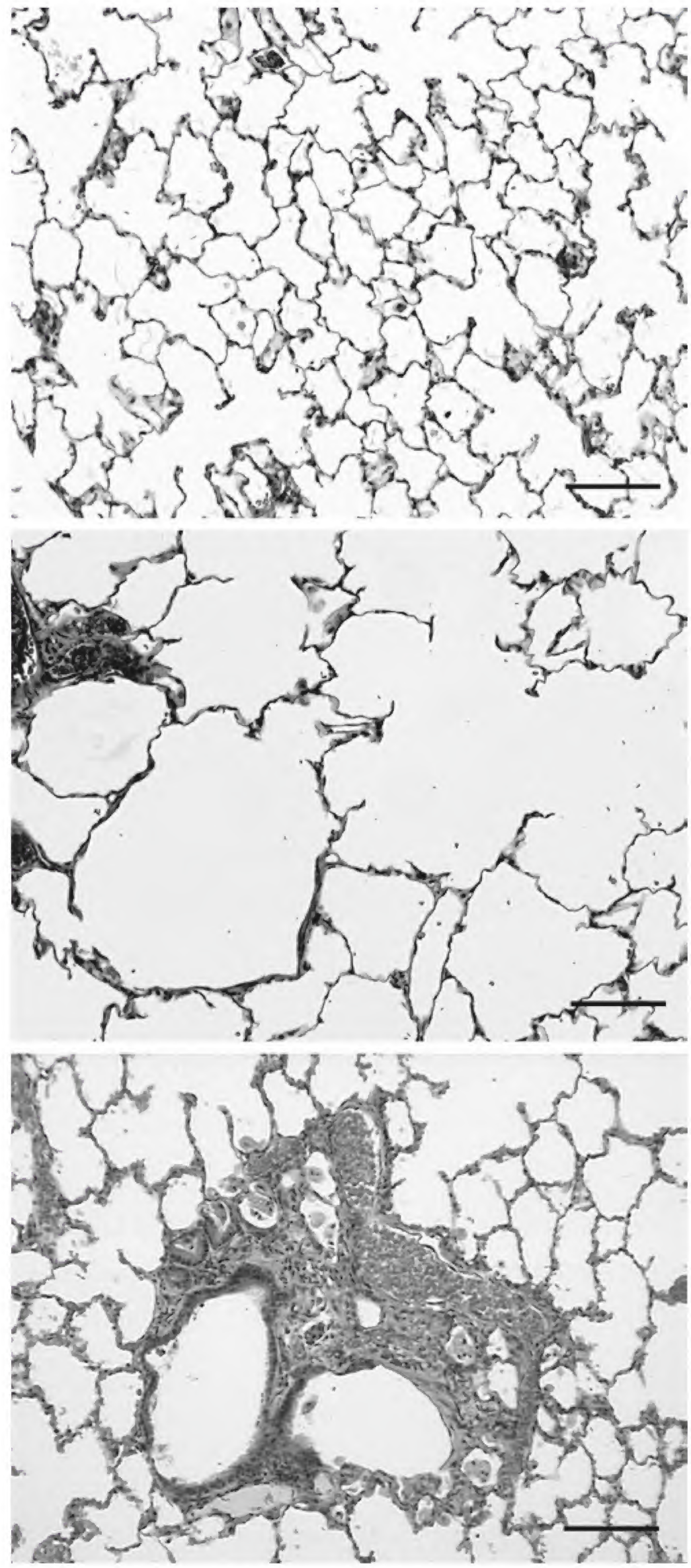


FIGURA 15.5 Modelos de enfisema e fibrose em ratos. *Figura no alto.* Micrografia óptica de pulmões normais de rato. *Figura no centro.* Pulmões de rato espontaneamente hipertenso (EH) 12 semanas após inalação de fumaça de cigarros em uma concentração de 90 mg/m^3 de material particulado suspenso total. Observe a extensa distensão dos alvéolos (enfisema). *Figura inferior.* Pulmão de rato 1 ano após exposição (8 h/dia, 5 dias por semana, durante 12 meses) a amianto crisotila. Observe o acúmulo de tecido conjuntivo ao redor dos vasos sanguíneos e das vias aéreas (fibrose). Comprimento da barra: 100 μm. (Fotografia cortesia de Dr. Kent E. Pinkerton, University of California, Davis.)

racterística do enfisema induzido por subtâncias tóxicas é a inflamação grave e recorrente.

Uma hipótese comum que explica a patogenia do enfisema é resultante de estudos de vários pesquisadores. A antiprotease-α_1 (antes denominada antitripsina-α_1) é uma das principais defesas do organismo contra a digestão proteolítica descontrolada dessa classe de enzimas, incluindo a elastase. Estudos com fumantes levaram à hipótese de que as elastases de neutrófilos (e talvez dos macrófagos) podem hidrolisar a elastina pulmonar e, assim, causar o enfisema; essas elastases, em geral, são mantidas sob controle pela antiprotease-α_1 que se difunde para os pulmões a partir do sangue. Conforme os indivíduos envelhecem, um acúmulo de eventos elastolíticos ao acaso pode causar as alterações enfisematosas nos pulmões, normalmente associadas com o envelhecimento. As substâncias tóxicas que causam o influxo de células inflamatórias e, assim, aumentam a presença de elastase neutrofílica podem acelerar esse processo.

Fibrose

Pulmões fibróticos de humanos com fibrose pulmonar aguda ou crônica contêm quantidades aumentadas de colágeno. Em pulmões lesados por substâncias tóxicas, a resposta assemelha-se à síndrome de angústia respiratória adulta ou infantil. Em geral, o excesso de colágeno é observado não só no interstício alveolar, mas também por todos os ductos alveolares e bronquíolos respiratórios (Fig. 15.5).

Os colágenos dos tipos I e III são os principais componentes e estão em proporção aproximada de 2:1. Há um aumento no colágeno do tipo I em relação ao do tipo III em pacientes com fibrose pulmonar idiopática e naqueles que morrem em decorrência da síndrome da angústia respiratória aguda. Não se sabe se é a mudança nos tipos de colágeno, comparada com o aumento absoluto do conteúdo da proteína, a responsável pelo aumento da rigidez dos pulmões fibróticos. Como o colágeno do tipo III é mais complacente do que o tipo I, o aumento relativo do colágeno do tipo I em relação ao do tipo III pode resultar em pulmões mais rígidos. Alterações nas ligações cruzadas dos colágenos nos pulmões fibróticos também podem contribuir para o aumento da rigidez.

Asma

A asma caracteriza-se clinicamente por crises de falta de ar causadas pelo estreitamento das grandes vias aéreas condutoras (brônquios). O que distingue a asma é o aumento da reatividade dos músculos lisos dos brônquios em resposta à exposição a irritantes. Pode haver mecanismos comuns entre asma e fibrose pulmonar com relação ao papel da inflamação recorrente ou crônica na patogênese da doença.

Câncer pulmonar

Atualmente, o câncer pulmonar é a uma das principais causas de morte de homens e mulheres. Estudos epidemiológicos retrospectivos e prospectivos mostram de forma evidente uma associação entre o tabagismo e o câncer pulmonar. Fumantes médios têm 10 vezes mais risco de desenvolver câncer pulmonar, e os pesados 20 vezes mais em comparação com não fumantes. Várias outras substâncias também causam câncer pulmonar (Tab. 15.1).

Os cânceres pulmonares humanos têm um período de latência de 20 a 40 anos, tornando difícil estabelecer uma relação com exposição específica. Vários cânceres de pulmão em humanos têm origem nas células mucosas das vias aéreas, mas, durante as últimas duas décadas, houve um aumento significativo nos adenocarcinomas periféricos. Comparado com o câncer pulmonar, o câncer nas vias aéreas respiratórias superiores é menos comum.

Os mecanismos potenciais da carcinogênese pulmonar centralizam-se na lesão ao DNA. Um carcinógeno ativado ou seu produto metabólico pode interagir com o DNA. A lesão do DNA causada por espécies reativas de oxigênio é outro mecanismo potencialmente importante. As radiações ionizantes promovem a formação de superóxidos. A fumaça de cigarro contém elevada quantidade de espécies reativas de oxigênio e outros radicais livres.

Os pulmões em desenvolvimento

Os pulmões em desenvolvimento são excepcionalmente sensíveis a muitas substâncias tóxicas presentes no ar ou no sangue. Foi observado que crianças que vivem com fumantes ativos sofrem de infecções do ouvido médio e infecções do sistema respiratório inferior. Crianças nascidas de mães fumantes têm vias aéreas espessadas e mais estreitas em comparação com filhos de mães não fumantes. Como o desenvolvimento pulmonar ocorre tanto no período pré-natal como no pós-natal, o estágio de desenvolvimento no qual ocorre a exposição às substâncias tóxicas pode influenciar fortemente a gravidade das lesões.

AGENTES CONHECIDOS COMO PRODUTORES DE LESÃO PULMONAR EM HUMANOS

Nos últimos 20 anos, acumulou-se um grande volume de conhecimentos a respeito dos eventos celulares e moleculares que determinam as lesões e a recuperação pulmonar. A Tabela 15.1 relaciona os agentes tóxicos mais comuns que são sabidamente produtores de lesões pulmonares agudas e crônicas em humanos.

Agentes tóxicos presentes no ar que produzem lesão pulmonar em humanos

Sobrecarga pulmonar causada por partículas Pesquisadores observaram redução na velocidade de *clearance* alveolar quando a carga depositada é elevada. Os mecanismos de *clearance* no interior dos pulmões dependem principalmente de fagocitose, e a migração de macrófagos nos alvéolos pulmonares pode ser superada quando são respiradas quantias de poeiras respiráveis que excedem amplamente a capacidade fisiológica. Em consequência, as cargas pulmonares dessas poeiras persistem por meses ou anos, e podem acontecer mecanismos não fisiológicos de patogênese de doenças.

A exposição a fibras de amianto, por exemplo, ocorre frequentemente na mineração e em construções (sobretudo em demolições). Uma vez depositadas nos pulmões, as fibras devem ser fagocitadas por macrófagos. As relativamente longas são ingeridas de forma incompleta, e os macrófagos não conseguem sair dos alvéolos. A liberação de linfocinas e fatores de crescimento estimula a produção de colágeno e inicia a sequência de eventos inflamatórios, levando à carcinogênese.

TABELA 15.1 Toxicantes industriais que provocam doença pulmonar

Toxicante	Denominação comum da doença	Fonte ocupacional	Efeitos agudos	Efeitos crônicos
Amianto	Asbestose	Mineração, construção civil, construção naval, manufatura de materiais contendo amianto		Fibrose, calcificação pleural, câncer pulmonar, mesotelioma pleural
Poeira de alumínio	Aluminose	Manufatura de produtos contendo alumínio, fogos de artifício, cerâmica, tintas, materiais elétricos, abrasivos	Tosse, encurtamento da respiração	Fibrose intersticial
Abrasivos à base de alumínio	Doença de Shaver, pulmão dos fundidores de coríndo*, pulmão de bauxita	Manufatura de abrasivos, fundições	Edema alveolar	Fibrose intersticial, enfisema
Amônia		Produção de amônia, fabricação de fertilizantes, produção de substâncias químicas, explosivos	Irritação do sistema respiratório superior e inferior, edema	Bronquite crônica
Arsênio		Fabricação de praguicidas, pigmentos, vidros e ligas	Bronquite	Câncer pulmonar, bronquite, laringite
Berílio	Beriliose	Extração de minério, fabricação de ligas, cerâmicas	Edema pulmonar grave, pneumonia	Fibrose, dispneia progressiva, granulomatose intersticial, câncer pulmonar, *cor pulmonale*
Óxido de cádmio		Soldagem, fabricação de equipamentos elétricos, ligas, pigmentos e fundição	Tosse, pneumonia	Enfisema, *cor pulmonale*
Carbetos de tungstênio, titânio, tântalo	Doença do metal pesado	Fabricação e afiação de cutelaria em ferramentas	Hiperplasia e metaplasia do epitélio brônquico	Fibrose peribronquial e perivascular
Cloro		Fabricação de polpa e papel, plásticos, substâncias cloradas	Tosse, hemoptise, dispneia, broncopneumonia traqueobrônquica	
Cromo (VI)		Produção de compostos de cromo, tintas, pigmentos, redução do minério de cromita	Irritação nasal, bronquite	Câncer de pulmão e fibroses
Poeira de carvão	Pneumoconiose	Mineração de carvão		Fibrose
Poeira de algodão	Bissinose	Indústria têxtil	Compressão torácica, chiados, dispneia	Função pulmonar reduzida, bronquite crônica
Fluoreto de hidrogênio		Fabricação de substâncias químicas, filmes fotográficos, solventes e plásticos	Irritação respiratória, hemorragia pulmonar, edema	
Óxidos de ferro	Doença do pulmão siderótico; pulmão de acabamento de prata, pulmão do minerador de hematita, pulmão de soldador de arco	Soldagem, fundição, fabricação de aço, mineração de hematita, fabricação de joias	Tosse	Pulmão de acabamento de prata: aglutinação subpleural e perivascular de macrófagos; pulmão de minerador de hematita: fibrose difusa tipo pneumoconiose; pulmão de soldador de arco: bronquite
Isocianatos		Fabricação de plásticos, indústria química	Irritação das vias aéreas, tosse, dispneia	Asma, diminuição da função pulmonar
Caolin	Caolinose	Fabricação de cerâmica		Fibrose
Manganês	Pneumonia por manganês	Indústria química e de metais	Pneumonia aguda, frequentemente fatal	Pneumonia recorrente

(*continua*)

TABELA 15.1 Toxicantes industriais que provocam doença pulmonar (*Continuação*)

Toxicante	Denominação comum da doença	Fonte ocupacional	Efeitos agudos	Efeitos crônicos
Níquel		Extração de minério de níquel, fundição, galvanoplastia, combustíveis fósseis	Edema pulmonar retardado por 2 dias (NiCO)	Carcinoma de células escamosas da cavidade nasal e nos pulmões
Óxidos de nitrogênio		Soldagem, enchimento de silos, fabricação de explosivos	Congestão pulmonar, edema	Bronquiolite obliterante
Ozônio		Soldagem, branqueamento de farinha, desodorizantes	Edema pulmonar	Fibrose
Fosgênio		Produção de plásticos, praguicidas e substâncias químicas	Edema	Bronquite, fibrose
Percloroetileno		Limpeza a seco, desengordurante de metais, fumigação de grãos	Edema	Câncer hepático e pulmonar
Sílica	Silicose, pneumoconiose	Mineração, corte de pedras, construção civil, agricultura, pedreiras, aplicação de jatos de areia	Silicose aguda	Fibrose, silicotuberculose
Dióxido de enxofre		Fabricação de substâncias químicas, refrigeração, branqueamento, fumigação	Broncoconstrição, tosse, compressão torácica	Bronquite crônica
Talco	Talcose	Indústria da borracha, cosméticos		Fibrose
Estanho	Estanhose	Mineração, processamento do estanho		Mosqueamento generalizado no raio X sem sinais clínicos
Vanádio		Fabricação de aço	Irritação das vias aéreas e produção de muco	Bronquite crônica

* Óxido de alumínio.

Oxigênio A toxicidade pelo oxigênio é mediada pelo aumento de produção de espécies de oxigênio parcialmente reduzidas. Animais expostos a 95 a 100% de oxigênio desenvolvem lesão pulmonar difusa que é fatal após 3 a 4 dias, em geral. As células epiteliais do tipo I e as células endoteliais capilares desenvolvem alterações necróticas. Os capilares lesados permitem o vazamento de líquido contendo proteínas e células sanguíneas no espaço alveolar. Membranas hialinas formadas pelos restos celulares e por exsudato proteináceo são sinais característicos da toxicidade do oxigênio aos pulmões. Nos animais que voltam a respirar ar após o desenvolvimento de toxicidade aguda ao oxigênio, ocorre proliferação celular ativa.

Agentes tóxicos presentes no sangue que causam toxicidade pulmonar em humanos

Paraquat O herbicida bipiridílico paraquat (historicamente usado no controle da maconha) produz extensa lesão pulmonar quando ingerido por humanos. Em pacientes que sobrevivem, nos primeiros dias da intoxicação aguda, podem-se desenvolver lesões pulmonares progressivas e eventualmente fatais por fibrose intersticial e intra-alveolar difusa. Após necrose generalizada inicial, segue-se extensa proliferação de fibroblastos no interstício alveolar. O paraquat acumula-se nas células pulmonares. Uma vez no interior das células, ele cicla continuamente de sua forma oxidada para a forma reduzida, com a formação concomitante de espécies reativas de oxigênio e, por fim, depleção de NADPH celular.

Monocrotalina A monocrotalina (MCT) é um dos vários produtos estruturalmente relacionados de ocorrência natural identificados em grãos, mel e chás. Esses compostos provocam necrose hepatocelular e doença venoclusiva. A MCT é biotransformada no fígado pelo citocromo P450 3A em uma substância alquilante bifuncional altamente reativa, o pirrol. Parte deste é liberada pelo fígado e alcança outros órgãos, como os pulmões, nos quais inicia lesões endoteliais resultando em hipertensão pulmonar e hipertrofia do lado direito do coração.

Bleomicina A bleomicina é um antineoplásico amplamente utilizado e que também provoca fibrose pulmonar. A sequência de lesões inclui necrose das células alveolares do tipo I e de endoteliais capilares, formação de edema e hemorragias, proliferação retardada (após 1 a 2 semanas) das células epiteliais do tipo II e, por fim, engrossamento das paredes alveolares com alterações fibróticas.

Ciclofosfamida e 1,3-bis-(2-cloroetil)-1-nitrosoureia (BCNU) Embora largamente utilizada como fármaco antineoplásico e imunossupressor, a ciclofosfamida provoca cistite hemorrágica e fibrose pulmonar. É biotransformada pelo sistema citocro-

mo P450 em dois produtos altamente reativos: a acroleína e a mostarda fosforamida, que iniciam a peroxidação lipídica. Em humanos, a toxicidade pulmonar é dose-dependente e frequentemente detectada primeiramente por uma diminuição da capacidade de difusão, sendo que a fibrose pulmonar subsequente pode ser fatal. Como a BCNU inibe a glutationa dissulfeto redutase pulmonar, a relação GSH/GSSG pode ser alterada, tornando as células pulmonares incapazes de lidar com o estresse oxidativo.

Fármacos catiônicos anfofílicos Vários fármacos com características estruturais similares, tais como o antiarrítmico amiodarona e o anorexígeno clorfentermina, provocam lipidose pulmonar, provavelmente inibindo as fosfolipases A e B. Assim, impedem a degradação do surfactante pulmonar, e o material se acumula nas células fagocíticas.

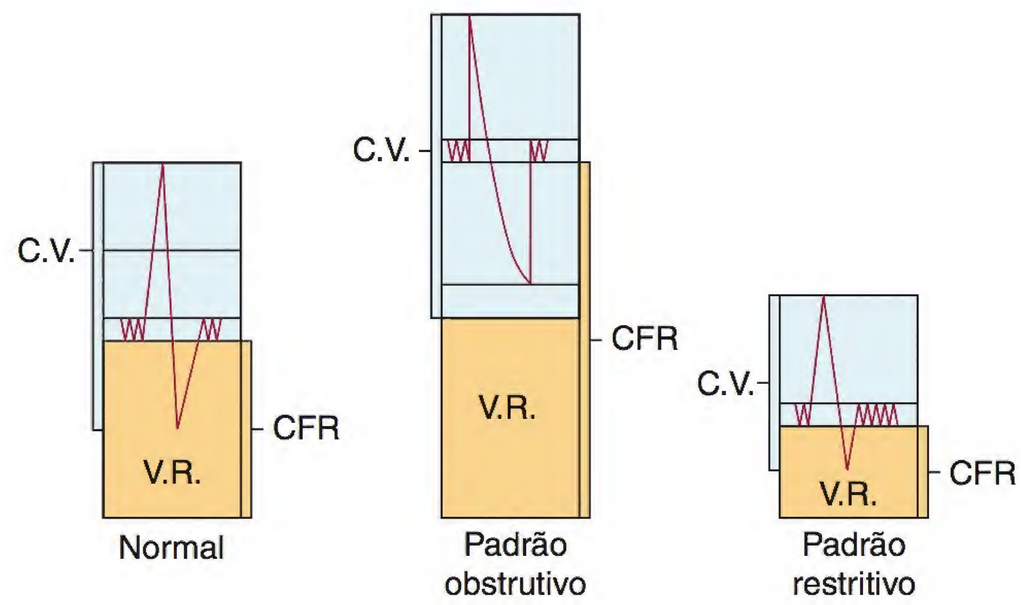


FIGURA 15.6 Medidas de volumes pulmonares típicas de indivíduos com função pulmonar normal, doença obstrutiva das vias aéreas ou doença pulmonar restritiva. Observe que há (1) diminuição da expiração forçada, além de sequestro de gás (aumento do volume residual), na doença obstrutiva e (2) diminuição geral nos volumes pulmonares na doença restritiva. Observe que as mensurações são lidas da esquerda para a direita. CFR = capacidade funcional residual.

AVALIAÇÃO DA LESÃO PULMONAR TÓXICA

Sistemas de exposição por inalação

Monitorar e quantificar poluentes gasosos requer detectores dispendiosos ou procedimentos de análise química úmida muito trabalhosos depois de se obterem amostras de gases das câmaras nas quais são borbulhados. Gerar as partículas é difícil. As câmaras de exposição devem permitir a rápida obtenção das concentrações desejadas de substâncias tóxicas, manter os níveis desejados homogêneos em toda a câmara, ter capacidade adequada para manter os animais experimentais e acumular o mínimo de produtos indesejados associados com a presença do animal (em geral amônia, resíduos, calor e dióxido de carbono). Como regra, o volume corporal total dos animais não deve exceder 5% do volume da câmara. Câmaras de exposição apenas nas narinas evitam alguns desses problemas.

Estudos de função pulmonar

Os testes comumente utilizados incluem mensurações de CV, CPT, VR funcional, VT, resistência das vias aéreas e fluxo máximo (Fig. 15.6). Testes adicionais avaliam a distribuição da ventilação, a complacência pulmonar e torácica, a capacidade de difusão e o conteúdo de oxigênio e dióxido de carbono no sangue venoso e arterial.

O FEV_1 (volume expiratório forçado durante o primeiro segundo de uma exalação ativa) é um teste de fácil realização em humanos, não requer equipamento sofisticado ou instalações hospitalares e é completamente não invasivo. Uma redução no FEV_1 em geral indica comprometimento da ventilação tal como observado em doenças pulmonares restritivas (aumento da rigidez pulmonar) ou obstrutivas (obstrução do fluxo de ar).

A análise dos padrões respiratórios tem sido amplamente utilizada para avaliar o efeito de irritantes. A técnica permite diferenciar entre irritantes sensoriais ou das vias aéreas superiores e irritantes "pulmonares". Irritantes muito hidrossolúveis, como amônia, cloro e formaldeído, produzem irritação do sistema respiratório superior, enquanto gases menos solúveis, como o dióxido de nitrogênio e o ozônio, causam irritação pulmonar. O padrão irritante sensorial tem sido descrito como diminuição da frequência respiratória enquanto há aumento no VT. Os irritantes pulmonares, em geral, aumentam a frequência respiratória e diminuem o volume-minuto. O resultado é uma respiração rápida e superficial.

Técnicas morfológicas

A patologia das lesões agudas e crônicas pode ser descrita após exame macroscópico e microscópico do sistema respiratório. A avaliação morfológica deve incluir o exame das passagens nasais, da laringe e das principais vias aéreas, bem como do parênquima pulmonar. Deve-se ter muito cuidado na fixação e na preparação dos tecidos. A escolha do fixador depende do modo de análise dos pulmões.

Secções habituais em parafina dos tecidos do sistema respiratório são adequadas para análises histopatológicas de rotina, permitindo a detecção de alterações patológicas grosseiras, como inflamação e presença de tecido canceroso. Secções de 1 μm de espessura em plástico ou Epon são necessárias para a identificação adequada dos diferentes tipos de células da mucosa das vias aéreas ou dos alvéolos e para o reconhecimento de alterações citoplasmáticas em células Claras lesadas. Outras alterações estruturais, como mudanças degenerativas ou necrose das células epiteliais do tipo I ou das células endoteliais capilares, podem ser detectadas com microscopia de transmissão eletrônica. A microscopia eletrônica de varredura permite a visualização da superfície de estruturas pulmonares internas, revela alterações na superfície tissular e detecta rearranjos de toda a população celular. A microscopia confocal permite o exame de secções espessas e a descoberta de tipos celulares específicos nos tecidos, tornando possível, assim, a reconstrução tridimensional dos pulmões normais e lesados.

Recursos adicionais para o estudo de lesões tóxicas nos pulmões incluem imuno-histoquímica, hibridização *in situ* e análise de cinética celular. Estão disponíveis anticorpos contra uma variedade de enzimas, mediadores e outras proteínas. A hibridização *in situ* permite visualizar locais anatômicos em que se expressa um produto de gene específico, como, por exemplo, a produção de colágeno em um pulmão fibrótico. A citometria de fluxo é valiosa nos estudos de populações de células preparadas a partir dos pulmões. A técnica requer a dissociação do parênquima pulmonar em suas populações celulares individuais. As diferentes células pulmonares podem, então, ser identificadas e isoladas.

Lavagem pulmonar

Pulmões de animais controle e expostos são lavados com múltiplos pequenos volumes de salina isotônica. O objetivo é a mensuração de leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e monócitos (e suas capacidades fagocíticas) na fração celular e a mensuração de vários tipos de enzimas e da proteína total. A mensuração das mudanças aparentes na permeabilidade da barreira sangue-ar pela quantificação de um traçador injetado por via intravenosa no líquido do lavado pulmonar é outro índice útil do dano pulmonar.

Métodos *in vitro*

Os métodos *in vitro* são particularmente adequados para o estudo dos mecanismos que causam lesão pulmonar. Os sistemas apresentados a seguir são amplamente utilizados.

Perfusão de pulmão isolado Os pulmões, *in situ* ou excisados, são perfundidos com sangue ou com um substituto do sangue pela rede arterial pulmonar; ao mesmo tempo, são ventilados. Os agentes tóxicos podem ser introduzidos no perfusato ou no ar inspirado. Amostras repetidas do perfusato permitem determinar a velocidade da biotransformação das substâncias tóxicas e a atividade metabólica dos pulmões.

Explantes e fatias de pulmão Explantes e fatias das vias aéreas de condução ou do parênquima pulmonar permitem examinar alterações bioquímicas e morfológicas no parênquima pulmonar sem as complicações resultantes da migração de células para os tecidos (p. ex., leucócitos). Se os pulmões são inflados inicialmente com ágar, os espaços alveolares permanecem abertos nos explantes. Fatias preparadas dessa forma podem ser mantidas viáveis por várias semanas e permitem o estudo do mecanismo de desenvolvimento das lesões crônicas.

Microdissecção Vários inalantes atuam em regiões circunscritas do sistema respiratório, tais como os bronquíolos terminais, uma região especialmente rica em células Claras metabolicamente muito competentes. A microdissecção das vias aéreas consiste do isolamento dos pequenos brônquios e dos bronquíolos terminais do parênquima circundante e sua manutenção em cultura. Assim, podem ser estudadas reações bioquímicas específicas predominantemente localizadas nas células das pequenas vias aéreas, com técnicas morfológicas e bioquímicas.

Sistemas de cultura celular organotípicas Os sistemas de cultura de tecidos permitem às células epiteliais manter sua polaridade, diferenciação e função normal similares àquelas observadas *in vivo*. As superfícies celulares epiteliais são expostas ao ar (ou a uma fase gasosa contendo uma substância tóxica presente no ar), enquanto a porção basal é banhada por um meio de cultura de tecidos.

Populações de células pulmonares isoladas Vários tipos de células pulmonares específicos têm sido isolados e mantidos em culturas primárias *in vitro*. Os macrófagos alveolares são facilmente obtidos por lavagem de pulmões de animais e de humanos. Sua função pode ser examinada *in vitro* com ou sem exposição a um estímulo tóxico apropriado. As células epiteliais alveolares do tipo II são isoladas após digestão dos pulmões. O isolamento direto das células epiteliais do tipo I também é possível. Sistemas para o isolamento e cultura das células Claras e células neuroepiteliais estão disponíveis. Os fibroblastos pulmonares crescem facilmente e têm sido estudados em coculturas com células epiteliais. Culturas de células primárias múltiplas e linhagens celulares foram desenvolvidas de tumores pulmonares encontrados em animais experimentais e em humanos.

REFERÊNCIAS

Gardner DE (ed): *Toxicology of the Lung*, 4th ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2006.

Harding R, Pinkerton KE, Plopper CG (eds): *The Lung. Development, Aging and the Environment.* Holland: Elsevier, 2004.

Haschek WM, Rousseaux CG, Wallig MA (eds): *Handbook of Toxicologic Pathology*, 2nd ed., Vol. 2. Academic Press, San Diego, Ca, 2002.

IARC (International Agency for Research on Cancer): *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans.* Volume 83 in *Tobacco Smoke and Involuntary Smoking.* Lyon, France: IARC, 2004.

Oberdorster G, Oberdorster E, Oberdorster J: Nanotoxicology: an emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environ Health Perspect* 113: 823-39, 2005.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes afirmações é FALSA com relação ao papel do muco nas vias aéreas de condução?
   a. Os poluentes aprisionados pelo muco podem ser eliminados por expectoração ou deglutição.
   b. O muco tem pH básico.
   c. O batimento dos cílios propulsiona o muco para fora dos pulmões.
   d. O muco promove o estresse oxidativo.
   e. Uma das funções do muco parece ser o sequestro de radicais livres.

2. A síndrome de angústia respiratória algumas vezes afeta os recém-nascidos prematuros devido à falta de produção de surfactante por qual dos seguintes tipos de células?
   a. Fibroblastos pulmonares
   b. Pneumócitos do tipo II
   c. Células endotraqueais
   d. Macrófagos alveolares
   e. Pneumócitos do tipo I

3. Em uma situação em que há aumento da demanda metabólica de oxigênio, qual das seguintes medidas de volume estará muito elevada?
   a. Capacidade pulmonar total (CPT)
   b. Volume residual (VR)
   c. Capacidade funcional residual (CFR)
   d. Volume tidal (VT)
   e. Capacidade vital (CV)

4. Os radicais livres que infligem lesões oxidativas nos pulmões são gerados por todos os seguintes, EXCETO:
   a. Fumaça de cigarro
   b. Neutrófilos
   c. Ozônio
   d. Monócitos
   e. SO_2

5. Qual dos seguintes gases ultrapassa todas as barreiras do sistema respiratório e difunde-se para o suprimento pulmonar de sangue mais facilmente?
   a. O_3 (ozônio)
   b. NO_2
   c. H_2O
   d. CO
   e. SO_2

6. Todas as seguintes afirmações com relação à sedimentação de partículas e sua *clearance* são verdadeiras, EXCETO:
   a. Um dos principais modos de *clearance* de partículas é por meio do transporte mucociliar.
   b. A difusão é importante no depósito de partículas nas regiões bronquiais.
   c. Grandes volumes de ar inspirado aumentam a deposição de partículas nas vias aéreas.
   d. A sedimentação resulta em depósito nos bronquíolos.
   e. A deglutição é um mecanismo importante de *clearance* de partículas.

7. Qual dos seguintes não é um local comum para onde as partículas são depuradas?
   a. Estômago
   b. Nódulos linfáticos
   c. Vasculatura pulmonar
   d. Fígado
   e. Sistema digestório

8. A fibrose pulmonar é agravada por qual dos seguintes eventos?
   a. Aumento do colágeno do tipo I
   b. Diminuição do colágeno do tipo III
   c. Aumento da complacência
   d. Ativação da elastase
   e. Diminuição geral dos níveis de colágeno

9. A ativação de qual(is) enzima(s) é responsável pelo enfisema?
   a. Antitripsina
   b. Epóxido hidrolase
   c. Elastase
   d. Hialuronidase
   e. Proteases inespecíficas

10. Qual das seguintes alterações NÃO é esperada em um paciente com doença pulmonar restritiva?
    a. Diminuição da capacidade funcional residual (CFR)
    b. Diminuição do volume respiratório (VR)
    c. Aumento da capacidade vital (CV)
    d. Diminuição do volume expiratório forçado (VEF_1)
    e. Ventilação prejudicada

CAPÍTULO

16

Respostas Tóxicas do Sistema Nervoso

Virginia C. Moser, Michael Aschner, Rudy J. Richardson e Martin A. Philbert

REVISÃO DO SISTEMA NERVOSO
- **Barreira hematencefálica**
- **Necessidades energéticas**
- **Transporte axonal**
- **Degeneração axonal**
- **Formação e manutenção da mielina**
- **Neurotransmissão**
- **Desenvolvimento do sistema nervoso**
- **Fatores ambientais relevantes para doenças neurodegenerativas**

MANIFESTAÇÕES FUNCIONAIS DE NEUROTOXICIDADE

MECANISMOS DE NEUROTOXICIDADE
- **Neuronopatias**
  - Doxorrubicina
  - Metilmercúrio
  - Toxicidade por dopamina, 6-hidroxidopamina e catecolaminas
- **Axonopatias**
  - Gama-dicetonas
  - Dissulfeto de carbono
  - IDPN
  - Acrilamida
  - Compostos organofosforados
  - Piridinationa
  - Neurotoxicidade associada a microtúbulos
- **Mielinopatias**
  - Hexaclorofeno
  - Telúrio
  - Chumbo
- **Astrócitos**
  - Amônia
  - Nitroquímicos
- **Neurotoxicidade associada à neurotransmissão**
  - Nicotina
  - Cocaína e anfetaminas
  - Aminoácidos excitatórios
- **Modelos de doença neurodegenerativa**
  - MPTP
  - Manganês

AGENTES QUÍMICOS QUE INDUZEM DEPRESSÃO DA FUNÇÃO DO SISTEMA NERVOSO

PONTOS-CHAVE

- O sistema nervoso central (SNC) é protegido de efeitos adversos de vários toxicantes potenciais por uma barreira anatômica hematencefálica.
- Os neurônios são altamente dependentes do metabolismo aeróbico, porque essa energia é necessária para manter o gradiente iônico próprio.
- O neurônio, o axônio, a célula mielinizada ou o sistema de neurotransmissores são alvos típicos de compostos neurotóxicos distintos.
- Neuronopatia é a perda irreversível de neurônios induzida por um toxicante, incluindo suas extensões citoplasmáticas, dendritos e axônios e a bainha de mielina do axônio.
- Neurotoxicantes que causam *axonopatias* induzem degeneração axonal e diminuição da mielina ao redor do axônio; contudo, o corpo celular do neurônio permanece intacto.
- Numerosas toxinas de ocorrência natural, bem como químicas sintéticas, podem interromper a transmissão de impulsos, bloquear ou acentuar a comunicação trans-sináptica, bloquear a recaptação de neurotransmissores ou interferir nos sistemas de segundo mensageiro.

REVISÃO DO SISTEMA NERVOSO

Várias generalidades que permitem um conhecimento básico das ações de neurotoxicantes incluem: (1) o *status* privilegiado do sistema nervoso (SN) com a manutenção de uma barreira bioquímica entre o cérebro e o sangue; (2) a importância da alta necessidade energética do cérebro; (3) as extensões espaciais do SN como longos processos celulares e a necessidade de células com uma geometria complexa; (4) a manutenção de um ambiente rico em lipídeos; (5) a transmissão de informação no espaço extracelular da sinapse; (6) as distâncias por meio das quais os impulsos elétricos podem ser transmitidos, coordenados e integrados; e (7) o desenvolvimento e o padrão regenerativo do SN.

Barreira hematencefálica

O SNC é protegido de efeitos adversos de vários toxicantes potenciais por uma barreira anatômica entre o sangue e o cérebro, ou "barreira hematencefálica". Para tentar entrar no SN, as moléculas devem preferencialmente atravessar a membrana celular das células endoteliais do cérebro em vez de passar entre as células endoteliais, como fazem em outros tecidos (Fig. 16.1). A barreira hematencefálica também contém transportadores de xenobióticos que transportam de volta para o sangue alguns xenobióticos que se difundiram através das células endoteliais. Se não for por transporte ativo para dentro do cérebro, a penetração dos toxicantes ou de seus metabólitos no SN é amplamente relacionada a sua solubilidade em lipídeos. Contudo, gânglios autonômicos e espinais, bem como um pequeno número de

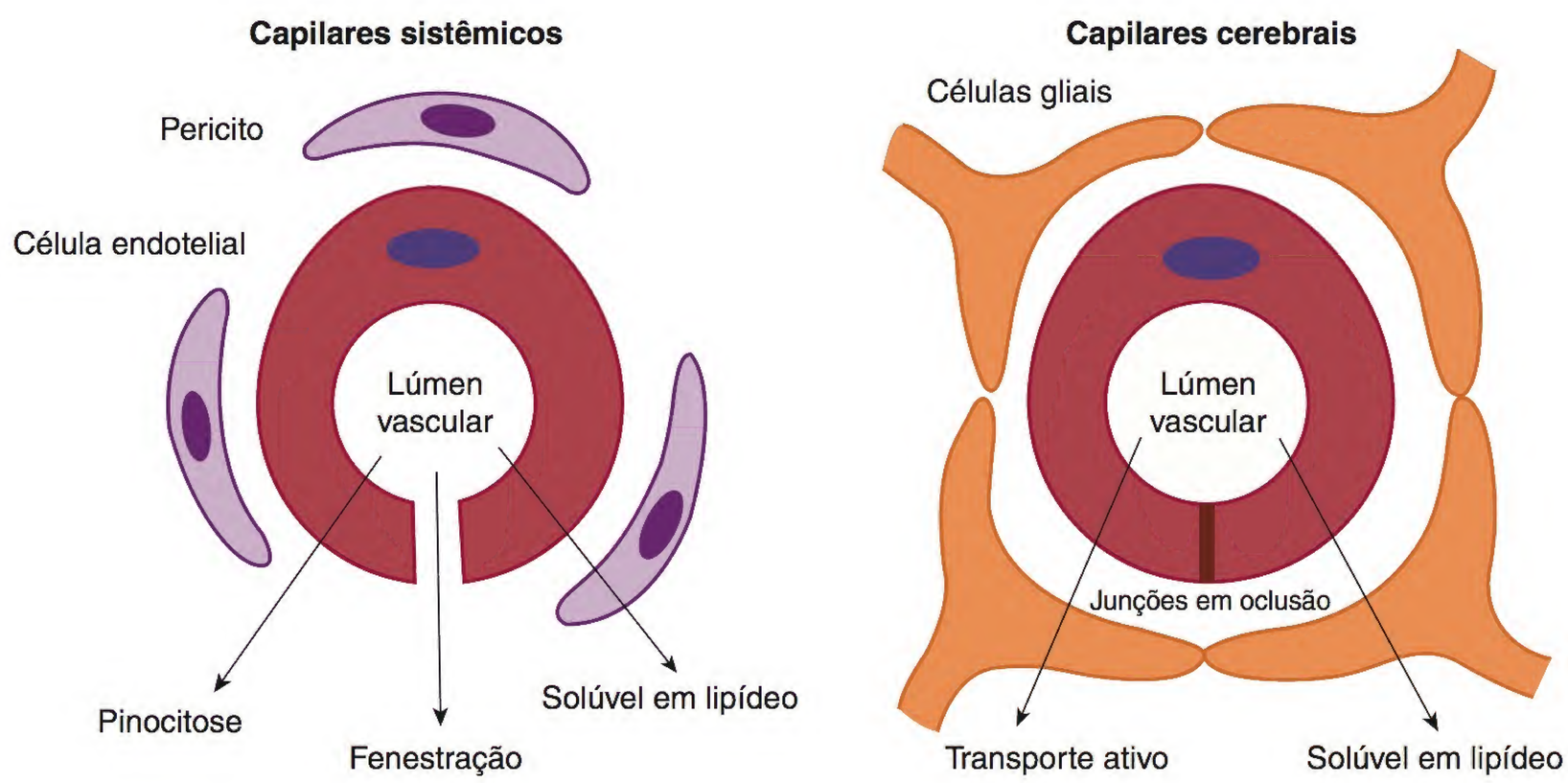


FIGURA 16.1 Diagrama esquemático da barreira hematencefálica. Os capilares sistêmicos são apresentados com lacunas intracelulares ou fenestrações, que permitem a passagem de moléculas incapazes de atravessar a célula endotelial. Há, também, pinocitose mais abundante nos capilares sistêmicos, associada à passagem transcelular de compostos solúveis em lipídeos. Nos capilares cerebrais, as junções em oclusão entre as células endoteliais e a falta de pinocitose limitam o transporte a compostos passíveis a sofrer transporte ativo ou àqueles que passam através das membranas celulares em virtude de sua solubilidade em lipídeos.

outros sítios cerebrais, não são protegidos por barreiras tecido-sangue. A barreira hematencefálica não está completamente desenvolvida ao nascimento e ainda menos em crianças prematuras. Isso predispõe as crianças prematuras a lesões cerebrais por toxicantes, que, mais tarde na vida, são excluídos do SN.

Necessidades energéticas

Os neurônios são altamente dependentes do metabolismo aeróbico, porque essa energia é necessária para manter o apropriado gradiente iônico. O cérebro é extremamente sensível a breves interrupções no suprimento de oxigênio ou glicose. A exposição a toxicantes que inibem a respiração aeróbica (p. ex., cianeto) ou a condições que produzem hipoxia (p. ex., intoxicação por CO) conduz a sinais precoces de disfunção neuronal.

Transporte axonal

Impulsos são conduzidos a grandes distâncias e rápida velocidade, levando informações para o organismo sobre o ambiente de maneira coordenada, que é seguida por uma resposta organizada sendo conduzida a um local específico. Contudo, a intrincada organização dessa rede complexa conduz a uma demanda sem precedentes sobre as células do SN. As células individuais, em vez de serem esféricas e de poucos micrômetros de diâmetro, são alongadas e podem se estender por mais de um metro de comprimento. Duas demandas imediatas do neurônio são a manutenção de um grande volume celular requerendo mais síntese de proteínas e o transporte de materiais intracelulares a grandes distâncias utilizando vários mecanismos. Essas demandas requerem ATP.

O transporte axonal move as proteínas do corpo celular para um local apropriado do axônio. O *transporte axonal rápido* carreia um grande número de proteínas dos seus locais de síntese no corpo celular para dentro do axônio. Muitas proteínas associadas com vesículas migram através do axônio a uma velocidade de 400 mm/dia (Fig. 16.2). Esse processo é dependente da atividade da ATPase associada a microtúbulos e das proteínas motoras associadas a microtúbulos, cinesina e dineína, que proporcionam a força mecanoquímica na forma de uma ATPase associada a microtúbulos e a interface entre microtúbulos como um caminho e as vesículas como a carga. Vesículas são transportadas rapidamente em uma direção anterógrada pela cinesina e em uma direção retrógrada pela dineína. Esse mecanismo de transporte citoplasmático é amplificado no SN, comparado com outras células, pelas distâncias circundadas pela extensão axonal de neurônios.

O transporte de algumas organelas, incluindo a mitocôndria, constitui um componente intermediário do transporte axonal, movendo-se a 50 mm/dia. O componente mais lento do transporte axonal é representado pelo movimento do citoesqueleto por ele mesmo (Fig. 16.2). O citoesqueleto é composto de microtúbulos formados pela associação de subunidades de tubulina e neurofilamentos formados pela união de três subunidades de proteínas. Cada um dos elementos do citoesqueleto move-se ao longo do axônio em uma velocidade específica. Em geral, o movimento do citoesqueleto axonal é composto pelo componente lento A (CLa), que representa o transporte axonal retrógrado, e pelo componente lento B (CLb), que representa o anterógrado.

Neurofilamentos e microtúbulos movem-se a uma velocidade de aproximadamente 1 mm/dia e compõem a maioria do CLa, o componente mais lento do transporte axonal. O CLb, composto de muitas proteínas, move-se a uma taxa ligeiramente mais rápida, de 2 a 4 mm/dia, apenas no sentido anterógrado. No CLb estão incluídas várias proteínas estruturais, tais como componentes de microfilamentos (actina) e várias proteínas associadas a microfilamentos (proteína M2 e fodrina), bem como clatrina e muitas proteínas solúveis.

O transporte axonal é o mecanismo pelo qual o neurônio fornece ao axônio distal seu complemento de proteínas funcionais e estruturais. Esse transporte contínuo de proteínas do corpo celular através de vários componentes é orientado para a frente, ou anterógrado. Algumas vesículas também se movem em uma direção retrógrada e, sem dúvida, proporcionam informações sobre o *status* do axônio distal ao corpo celular.

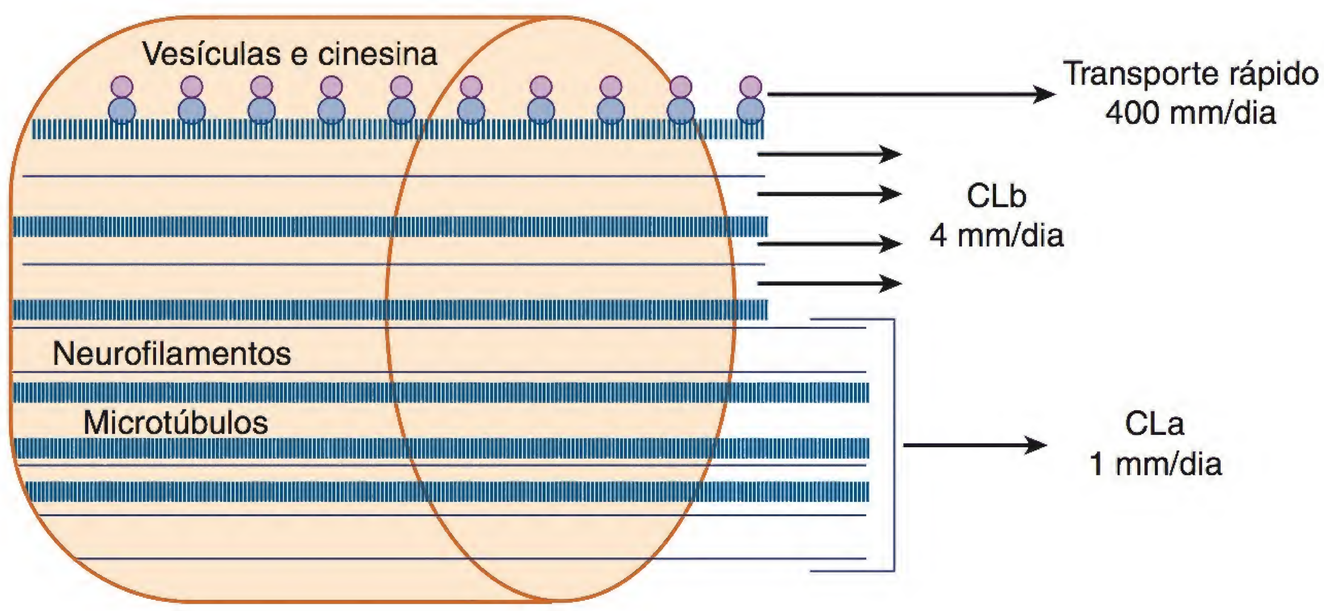


FIGURA 16.2 Diagrama esquemático do transporte axonal. O transporte axonal rápido é referido como vesículas esféricas movendo-se ao longo dos microtúbulos com intervenção de nervos motores associados a microtúbulos. O componente lento A (CLa) representa o movimento do citoesqueleto, composto de neurofilamentos e microtúbulos. O componente lento B (CLb) move-se a taxas mais rápidas do que o CLa e inclui proteínas solúveis, que estão aparentemente movendo-se entre o citoesqueleto que se move mais lentamente.

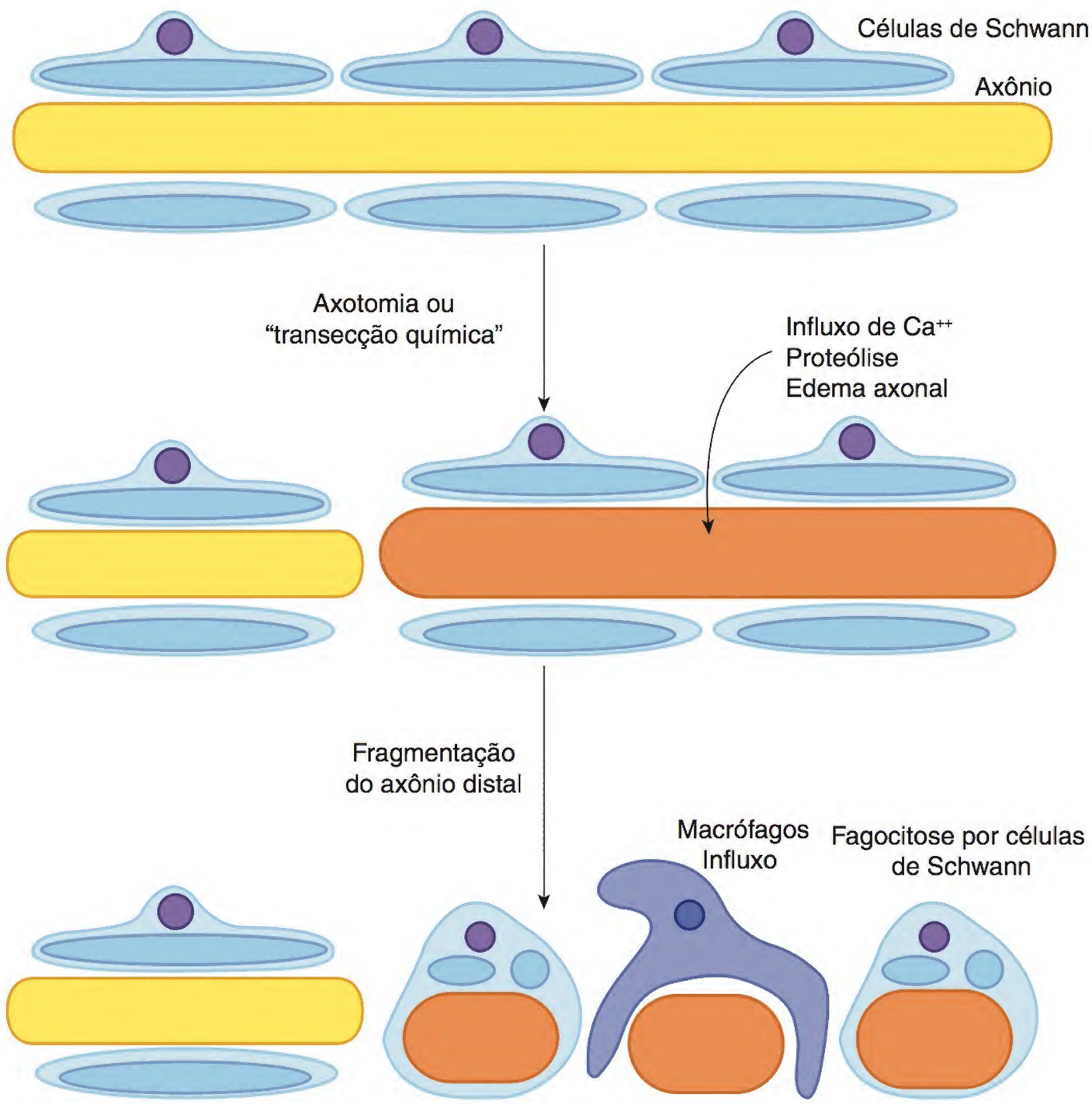


FIGURA 16.3 Diagrama esquemático da degeneração axonal. Após a axotomia ou lesão química de um axônio, suas porções distais sofrem um processo de degeneração axonal. Estágios iniciais de edema axonal são seguidos por fragmentação do axônio distal, fagocitose por células de Schwann e influxo de macrófagos, que são em grande parte derivados da circulação.

Degeneração axonal

Seguindo a axotomia (corte de um axônio), há degeneração do coto distal do nervo, conhecida como *degeneração Walleriana*, que é seguida pela geração de um microambiente favorável à regeneração. Após a morte do axônio, a proteólise ativa digere o axolema e o axoplasma, deixando apenas uma bainha de mielina envolvendo um axônio degenerado edemaciado (Fig. 16.3), que é, então, digerida por proteases endógenas. Células de Schwann fornecem orientação física para direcionar o crescimento de um axônio novo e também liberam fatores de crescimento para estimulá-lo. Respondem à perda de axônios diminuindo a síntese de lipídeos de mielina, diminuindo os genes que codificam as proteínas de mielina e (des)diferenciando-as para um fenótipo de células de Schwann mitóticas pré-mielinizadas. Além de fornecerem orientação física para regenerar os axônios, as células de Schwann fornecem suporte trófico para o fator de crescimento neural, para o fator de crescimento neural derivado do cérebro, para o fator de crescimento tipo insulina e para os receptores correspondentes produzidos pelas células de Schwann associadas. Macrófagos recrutados e residentes e as células de Schwann desnervadas agem na limpeza dos restos de mielina para que um novo axônio possa crescer no espaço.

Investigações mostram que a degeneração do coto axonal distal após a transecção é um processo ativo, sincronizado, que pode ser retardado pela diminuição da temperatura, pelo impedimento de entrada de Ca^{2+} extracelular ou pela inibição da proteólise pela calpaína II.

Quando o corpo celular neuronal sofre um dano letal, ele se degenera, em conjunto com todos os seus processos celulares. Esse processo é uma *neuronopatia* e é caracterizado pela perda do corpo celular e de todos os seus processos, sem potencial para regeneração. No entanto, quando a lesão é no axônio, este pode se degenerar enquanto o corpo celular neuronal continua a sobreviver, uma condição conhecida como "axonopatia" (Fig.16.4).

Formação e manutenção da mielina

A mielina é formada no SNC por oligodendrócitos e, no sistema nervoso periférico (SNP), por células de Schwann como camadas concêntricas pelo envolvimento progressivo de seus processos citoplasmáticos em torno do axônio em camadas sucessivas (Fig. 16.5). Essas células excluem o citoplasma da superfície interna de suas membranas para formar a principal linha densa de mielina. De maneira semelhante, o espaço extracelular é

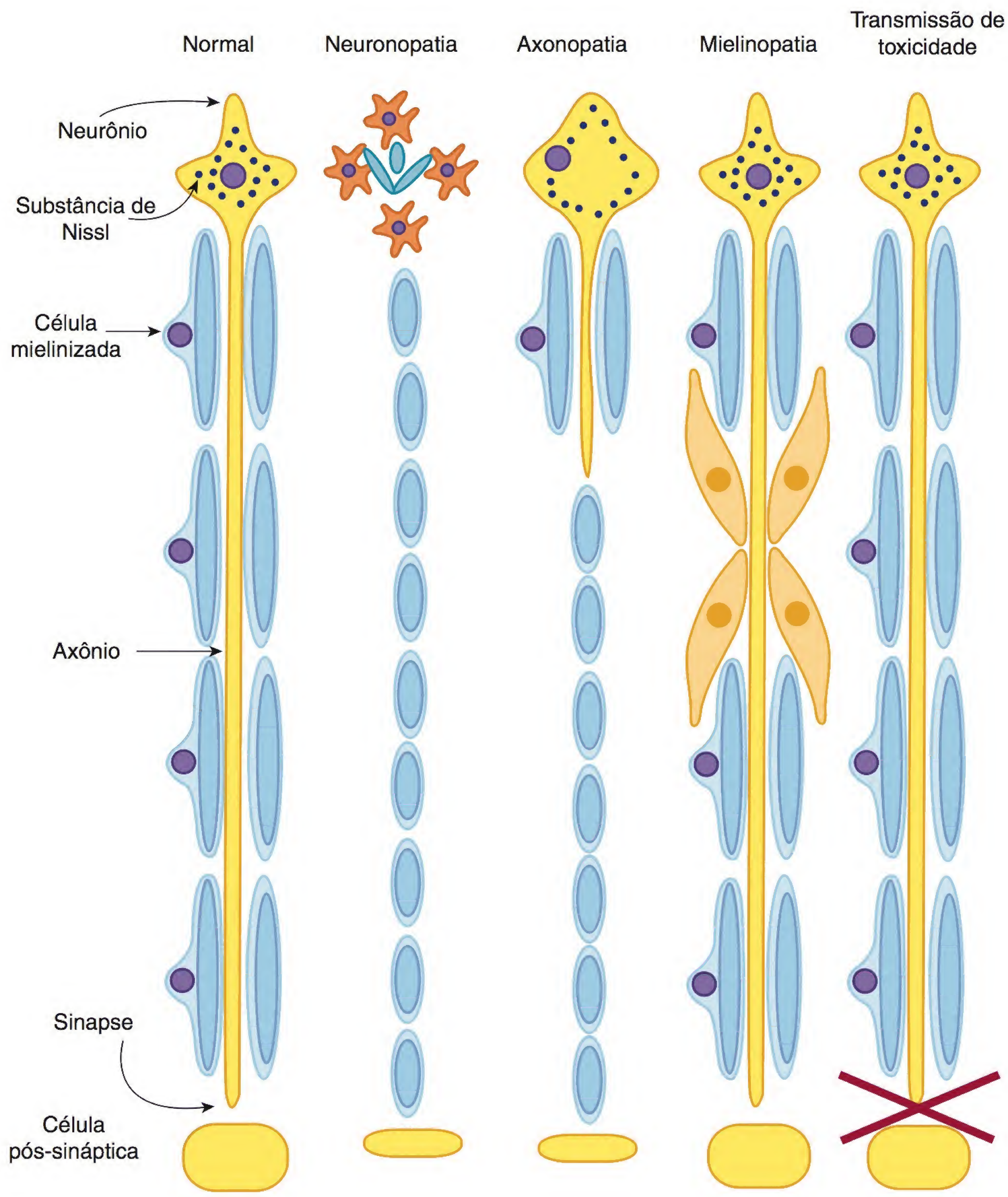


FIGURA 16.4 Padrões de lesão neurotóxica. A neuronopatia resulta da morte de todo o neurônio. Astrócitos frequentemente proliferam em resposta à perda neuronal, gerando perda neuronal e gliose. Quando o axônio é o local primário da lesão, ele pode se degenerar, enquanto o neurônio sobrevive sofrendo somente cromatólise com marginação da substância de Nissl e do núcleo para a periferia da célula. Essa condição é denominada axonopatia. Mielinopatias resultam da desregulação da mielina ou da lesão seletiva das células mielinizadas. Para prevenir a interferência entre axônios adjacentes, as células mielinizadas rapidamente dividem-se e cobrem o axônio desnudo; entretanto, o processo de remielinização é muito menos efetivo no SNC do que no SNP. Alguns compostos não conduzem a morte celular, mas exercem seus efeitos tóxicos por interromper os processos de neurotransmissão, seja por bloqueio da excitação ou por excessiva estimulação.

reduzido na superfície extracelular das camadas, e as membranas lipídicas se sobrepõem.

A manutenção da mielina é dependente do número de proteínas associadas à membrana e do metabolismo de lipídeos específicos presentes nas bicamadas de mielina. Alguns compostos tóxicos interferem nesse processo complexo de manutenção da mielina, o que resulta em "mielinopatias" tóxicas (Fig. 16.4). Em geral, a diminuição de mielina com a preservação de axônios é referida como *desmielinização*.

Neurotransmissão

A comunicação intercelular ocorre no SN por meio da sinapse. Neurotransmissores liberados do neurônio atuam como primeiro mensageiro. A ligação do neurotransmissor no receptor pós-sináptico é seguida pela modulação de canais iônicos ou ativação de um sistema de segundo mensageiro, levando a modificações na resposta celular. Vários fármacos e compostos tóxicos interferem no processo de neurotransmissão.

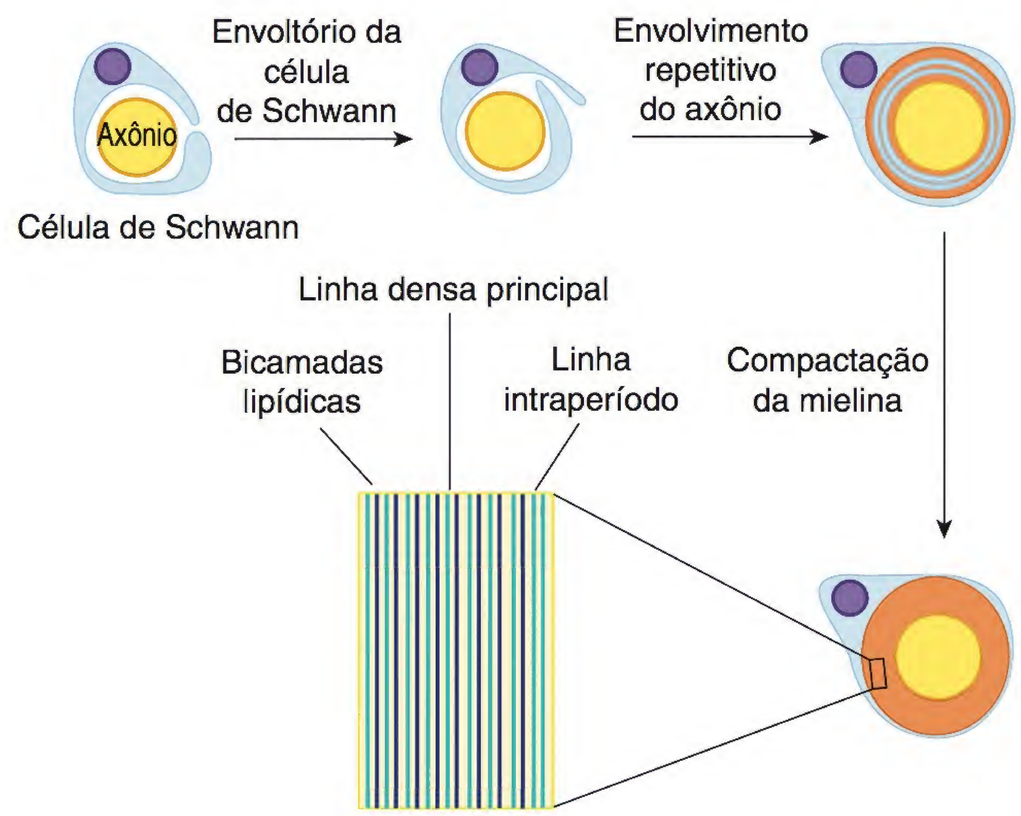


FIGURA 16.5 Diagrama esquemático da mielinização. A mielinização inicia quando as células mielinizadas circundam um axônio, também as células de Schwann no sistema nervoso periférico ou os oligodendrócitos no sistema nervoso central. O envoltório do axônio persiste em axônios não mielinizados. A formação da mielina segue por um envolvimento progressivo de múltiplas camadas de células mielinizadas ao redor do axônio, com a extrusão do citoplasma e do espaço extracelular para trazer a bicamada lipídica mais próxima. O espaço intracelular é comprimido para formar a linha densa principal de mielina, e o espaço extracelular, comprimido para formar a linha intraperíodo.

Desenvolvimento do sistema nervoso

Replicação, migração, diferenciação, mielinização e formação de sinapse são os processos básicos que constituem a base do desenvolvimento do SN. Neurônios e precursores de células de suporte replicam-se em uma área chamada de tubo neural e depois migram para diferentes destinos em todo o organismo. A mielinização começa no útero e continua até a infância. A conectividade sináptica, a base da função neurológica, é um processo dinâmico ao longo da vida.

O SN imaturo é vulnerável especialmente a certos agentes. A substituição insuficiente de células neurais lesadas, a formação lenta da barreira hematencefálica e a falta de enzimas metabólicas importantes podem influenciar a sensibilidade do SN. A exposição ao álcool durante a gravidez pode resultar em anormalidades no feto, incluindo migração neuronal anormal e anormalidades difusas no desenvolvimento dos processos neuronais. O resultado clínico da exposição fetal ao álcool é frequentemente retardo mental, com malformações do cérebro e retardo na mielinização da substância branca.

Fatores ambientais relevantes para doenças neurodegenerativas

Foi observado que indivíduos expostos a 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) em quantidades insuficientes para provocar parkinsonismo imediato desenvolveram, no entanto, os primeiros sinais da doença, anos mais tarde. Uma pequena exposição a MPTP pode causar decréscimo na população de neurônios da substância negra. Tal perda provavelmente é silenciosa até cerca de 80% dos neurônios da substância negra serem perdidos. Esses indivíduos com número reduzido de neurônios podem ser mais vulneráveis à perda de neurônios dopaminérgicos.

Uma demência epidêmica relacionada à diálise com alguma semelhança patológica à doença de Alzheimer parece ter sido relacionada ao alumínio em pacientes dialisados, e a remoção desse toxicante tem impedido mais casos de demência provocados pela diálise.

MANIFESTAÇÕES FUNCIONAIS DE NEUROTOXICIDADE

A avaliação funcional utiliza baterias de testes funcionais como meio para *screening* de compostos potencialmente neurotóxicos. Um grupo de testes comportamentais é normalmente realizado para avaliar uma variedade de funções neurológicas. Existem dois níveis distintos de testes funcionais a neurotoxicantes: primeira série, em que os testes podem ser usados para identificar a presença de uma substância neurotóxica, e segunda série, que envolve a caracterização dos efeitos do composto nas funções motoras, sensoriais, autonômicas e cognitivas. A segunda série é fundamental para a validação dos testes comportamentais, porque as alterações de comportamento são correlacionadas com a identificação fisiológica, bioquímica e patológica da lesão neurotóxica. Em última instância, os neurotoxicantes identificados por métodos comportamentais são avaliados em nível celular e molecular para fornecer uma compreensão dos eventos no SN que causam a disfunção neurológica detectada por testes observacionais.

MECANISMOS DE NEUROTOXICIDADE

Compostos neurotóxicos distintos têm, em geral, um dos quatro alvos: o neurônio, o axônio, a célula mielinizada ou o sistema neurotransmissor.

Neuronopatias

Certos toxicantes são específicos para neurônios, resultando em sua lesão ou morte. A perda de neurônios é irreversível e inclui a degeneração de todas as suas extensões citoplasmáticas, dendritos, axônios e da bainha de mielina do axônio (Fig. 16.4). As características do neurônio que o colocam em risco para a ação de toxicantes celulares incluem uma alta taxa metabólica, um longo processo celular que é suportado pelo corpo celular e uma membrana excitável que é rapidamente despolarizada e repolarizada.

Embora um grande número de compostos seja conhecido por resultar em neuronopatias tóxicas (Tab. 16.1), todas essas substâncias tóxicas compartilham algumas características. Cada condição tóxica é o resultado de um toxicante celular que tem uma predileção por neurônios. A lesão inicial do neurônio é seguida por apoptose ou necrose, levando a diminuição permanente de neurônios. Esses agentes tendem a ser difusos em sua ação, embora possam mostrar alguma seletividade no grau de lesão às diferentes subpopulações neuronais.

TABELA 16.1 Compostos associados com dano neuronal (neuronopatias)

Neurotoxicante	Achados neurológicos	Bases celulares da neurotoxicidade
Alumínio	Demência, encefalopatia (humanos), *déficit* de aprendizado	Espongiose cortical, agregado neurofibrilar, mudanças degenerativas no córtex
6-amino-nicotinamida	Não reportado em humanos, paralisia de membro posterior (animais experimentais)	Degeneração esponjosa (vacuolar) de medula espinal, tronco cerebral, cerebelo; degeneração axonal do SNP
Arsênio	Encefalopatia (aguda), neuropatia periférica (crônica)	Edema cerebral e hemorragia (aguda), degeneração axonal no SNP (crônica)
Azida	Dados insuficientes (humanos), convulsões, ataxia (primatas)	Perda neuronal no cerebelo e no córtex
Bismuto	Transtornos emocionais, encefalopatia, mioclonia	Perda neuronal dos gânglios da base e de células de Purkinje do cerebelo
Monóxido de carbono	Encefalopatia, parkinsonismo/distonia retardada	Perda neuronal no córtex, necrose do globo pálido, desmielinização focal, bloqueio do sítio de ligação do oxigênio e do sítio de ligação do ferro da hemoglobina no cérebro
Tetracloreto de carbono	Encefalopatia (secundária a falência hepática)	Astrócitos alargados no estriado e globo pálido
Cloranfenicol	Neurite óptica, neuropatia periférica	Perda neuronal (retina), degeneração axonal (SNP)
Cianeto	Coma, convulsão, morte súbita, parkinsonismo/distonia retardados	Degeneração neuronal do cerebelo e globo pálido, desmielinização focal, bloqueio da citocromo oxidase/produção de ATP
Doxorrubicina	Dados insuficientes (humanos), ataxia progressiva (animais experimentais)	Degeneração das células ganglionares da raiz dorsal, degeneração axonal (SNP)
Etanol	Retardo mental, *déficit* auditivo (exposição pré-natal)	Microcefalia, malformações cerebrais
Chumbo	Encefalopatia (aguda), *déficit* de aprendizado (crianças), neuropatia com desmielinização (ratos)	Edema cerebral, hemorragias (agudas), perda axonal no SNP (humanos)
Manganês	Transtornos emocionais, parkinsonismo/distonia	Degeneração do estriado e globo pálido
Mercúrio inorgânico	Transtornos emocionais, tremor, cansaço	Dados insuficientes em humanos (pode afetar o trato espinal, cerebelo)
Metanol	Cefaleia, perda visual, cegueira, coma (severo)	Necrose do putâmen, degeneração das células ganglionares da retina
Acetato de metilazoximetanol (MAM)	Microcefalia, desenvolvimento retardado (ratos)	Anormalidades de desenvolvimento do cérebro fetal (ratos)
Brometo de metila	Comprometimento visual e de fala, neuropatia periférica	Dados insuficientes
Metilmercúrio (mercúrio orgânico)	Ataxia, constrição de campos visuais, parestesias (adulto), retardo psicomotor (exposição fetal)	Degeneração neuronal do córtex visual, cerebelo e gânglios Degeneração esponjosa do córtex e do cerebelo
1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP)	Parkinsonismo, distonia (exposição aguda), desencadeamento precoce de parkinsonismo (efeito retardado de exposição aguda)	Degeneração neuronal na substância negra Degeneração neuronal na substância negra
Ácido 3-nitropropiônico	Convulsões, distonia/*grimacing** retardados	Necrose nos gânglios da base
Fenitoína (difenilidantoína)	Nistagmo, ataxia, tontura	Degeneração das células de Purkinje (cerebelo)
Quinina	Constrição de campos visuais	Vacuolização das células ganglionares da retina
Estreptomicina (aminoglicosídeos)	Perda auditiva	Degeneração do ouvido interno (órgão de Corti)
Tálio	Transtornos emocionais, ataxia, neuropatia periférica	Edema cerebral (agudo), degeneração axonal no SNP
Trimetiltina	Tremores, excitabilidade (animais experimentais)	Perda de neurônios do hipocampo, córtex piriforme da amídala

* N. de T.: *Grimacing* inclui maneirismo da mímica: expressões faciais diversas (dor, desgosto, humilhação), caretas ou grimaças.

A expressão desses eventos celulares é frequentemente uma encefalopatia difusa, com disfunções globais.

Doxorrubicina A doxorrubicina (adriamicina) lesa neurônios no SNP, especificamente aqueles dos gânglios da raiz dorsal e gânglios autonômicos, por intercalar com o DNA e interferir na transcrição. A vulnerabilidade dos neurônios sensórios e autonômicos parece refletir sua falta de proteção pela barreira tecido-sangue nos gânglios.

Metilmercúrio Os neurônios mais sensíveis aos efeitos tóxicos do metilmercúrio são aqueles que residem nos gânglios da raiz dorsal, talvez mais uma vez refletindo a vulnerabilidade dos neurônios não protegidos por barreiras sangue-tecido. A exposição ao metilmercúrio prejudica a glicólise, a biossíntese de ácidos nucleicos, a respiração aeróbica, a síntese de proteínas e a liberação de neurotransmissores. Além disso, existem evidências de aumento do dano oxidativo e alteração da homeostase de cálcio. A exposição ao metilmercúrio provoca dano neuronal disperso e encefalopatia difusa subsequente.

Toxicidade por dopamina, 6-hidroxidopamina e catecolaminas A oxidação de catecolaminas pela monoaminoxidase (MAO) forma H_2O_2, um conhecido metabólito citotóxico. A autoxidação de catecolaminas catalizada por íons metálicos, especialmente dopamina, resulta na produção de quinonas, derivadas de catecolaminas, bem como ânions superóxidos.

A 6-hidroxidopamina produz simpatectomia química nos nervos periféricos após administração sistêmica. A oxidação desse análogo das catecolaminas ocasiona a produção de espécies reativas de oxigênio com destruição seletiva da inervação simpática. As fibras simpáticas degeneradas levam a um tônus parassimpático descompensado, diminuindo a frequência cardíaca e aumentando a motilidade do sistema digestório.

Axonopatias

Os distúrbios neurotóxicos denominados *axonopatias* são aqueles nos quais o sítio primário de toxicidade é o próprio axônio. O axônio degenera e, com ele, a mielina que está ao seu redor. Entretanto, o corpo celular dos neurônios permanece intacto (Fig. 16.4). O toxicante provoca uma "transecção química" do axônio em algum ponto ao longo de seu comprimento, a qual degenera o axônio distal.

Existe uma importante diferença no significado da degeneração axonal no SNC comparada com aquela no SNP: axônios periféricos podem se regenerar, enquanto os centrais não. No SNP, células gliais e macrófagos auxiliam a regeneração axonal. No SNC, a liberação de fatores inibitórios a partir da mielina danificada e de astrócitos danificados interfere efetivamente na regeneração. A relevância clínica da disparidade entre o SNC e o SNP é que uma recuperação parcial a total pode ocorrer após a degeneração axonal no SNP, enquanto o mesmo evento é irreversível no SNC.

Axonopatias podem ser consideradas como o resultado de uma transecção química do axônio. O número de toxicantes axonais é grande e crescente (Tab. 16.2). Com os axônios danificados na altura mais distal dos processos axonais, sensibilidade e força motora de mãos e pés são as primeiras prejudicadas, resultando em uma neuropatia em "luvas e meias". Com o tempo e a continuidade da lesão, o *déficit* progride envolvendo as áreas mais proximais do corpo e os longos axônios da medula espinal.

Gama-dicetonas Seres humanos desenvolvem uma axonopatia sensório-motora distal quando expostos a altas concentrações de um alcano simples, o *n*-hexano, dia após dia em ambientes de trabalho ou após repetida inalação intencional de colas contendo hexano.

A ω-1 oxidação de *n*-hexano resulta no final em γ-dicetona, 2,5-hexanodiona (HD), a qual reage com grupos aminos terminais em todos os tecidos para formar pirróis que derivatizam e formam ligações cruzadas com neurofilamentos, levando ao desenvolvimento de agregados de neurofilamentos do axônio subterminal, distal. Os edemas axonais preenchidos de neurofilamentos distorcem a anatomia nodal e prejudicam o transporte axonal. O processo patológico de acúmulo de neurofilamento e degeneração do axônio é seguido pelo surgimento de uma neuropatia periférica clínica.

Dissulfeto de carbono A exposição significativa de humanos a CS_2 causa uma axonopatia distal patologicamente idêntica àquela causada pelo hexano. Ocorre a ligação cruzada covalente de neurofilamentos, e o CS_2 é, por si só, o toxicante final.

Os efeitos clínicos da exposição ao CS_2 em casos crônicos é muito similar àqueles da exposição ao hexano, com o desenvolvimento de sintomas sensórios e motores ocorrendo inicialmente em uma distribuição no padrão em "luvas e meias". O CS_2 também pode levar a alterações no humor e sinais de doença encefalopática difusa.

IDPN O β,β′ iminodipropionitrila (IDPN) provoca uma estranha waltzing syndrome, consistindo em excitação, andar em círculos, movimentação da cabeça e alerta máximo; parece resultar da degeneração das células sensoriais ciliadas vestibulares. Além disso, a administração de IDPN é seguida por edemas massivos preenchidos por neurofilamentos do axônio proximal, em vez de distal.

A 3,4-dimetil-2,5-hexanodiona (DMHD) é um análogo da HD 20 a 30 vezes mais potente como neurotoxicante, e o edema preenchido por neurofilamento ocorre no axônio proximal, como na intoxicação por IDPN. A intoxicação por DMHD provoca paralisia dos membros, enquanto a por IDPN resulta em atrofia muscular, mas não paralisia.

Acrilamida A acrilamida é um monômero vinílico amplamente utilizado em purificação de água, manufatura de papel, mineração e impermeabilização. É também muito usado em laboratórios de bioquímica, e está presente em muitos alimentos preparados a altas temperaturas. Estudos da neuropatia por acrilamida revelaram uma axonopatia distal caracterizada por múltiplos edemas axonais. Repetidas dosagens resultam em axonopatias mais proximais. Essas mudanças são causadas pelo acúmulo de neurofilamentos nos nervos terminais. Foi observado recentemente que a degeneração dos nervos terminais ocorre antes do desenvolvimento de axonopatia, sugerindo que essa degeneração é a lesão primária.

TABELA 16.2 Compostos associados com dano axonal (axonopatias)

Neurotoxicante	Achados neurológicos	Bases da neurotoxicidade
Acrilamida	Neuropatia periférica (frequentemente sensorial)	Degeneração axonal; em estágios precoces afeta o axônio terminal
p-bromofenilacetil ureia	Neuropatia periférica	Degeneração axonal no sistema SNP e no SNC
Dissulfeto de carbono	Psicose (aguda), neuropatia periférica (crônica)	Degeneração axonal; estágios precoces incluem edema neurofilamentoso
Clordecona (Kepone)	Tremores, incoordenação (animais experimentais)	Dados insuficientes (humanos), edema e degeneração axonal
Cloroquina	Neuropatia periférica, fraqueza	Degeneração axonal, inclusões na raiz dorsal das células ganglionares, também miopatia vacuolar
Clioquinol	Encefalopatia (aguda), neuropatia mielo-óptica (subaguda)	Degeneração axonal, medula espinal, SNP, trato óptico
Colchicina	Neuropatia periférica	Degeneração axonal, agregados de pericários filamentosos neuronais, miopatia vacuolar
Dapsona	Neuropatia periférica, predominantemente motora	Degeneração axonal (axônios mielinizados e não mielinizados)
Diclorofenoxiacetato	Neuropatia periférica retardada	Dados insuficientes
Dimetilaminopropionitrila	Neuropatia periférica, retenção urinária	Degeneração axonal (axônios mielinizados e não mielinizados)
Óxido de etileno	Neuropatia periférica	Degeneração axonal
Glutetimida	Neuropatia periférica (predominantemente sensorial)	Dados insuficientes
Ouro	Neuropatia periférica (pode haver problemas psiquiátricos)	Degeneração axonal, alguma desmielinização segmental
n-hexano	Neuropatia periférica, casos graves têm espasticidade	Degeneração axonal, edema neurofilamentoso precoce do SNP e da medula espinal
Hidralazina	Neuropatia periférica	Dados insuficientes
β,β′-iminodipropionitrila	Não há dados em humanos; distúrbios de movimentos excitatórios (ratos)	Edema axonal proximal, degeneração das células do epitélio olfatório e das células ciliadas vestibulares
Isoniazida	Neuropatia periférica (sensorial), ataxia (altas doses)	Degeneração axonal
Lítio	Letargia, tremor, ataxia (reversível)	Dados insuficientes
Metil-*n*-butilcetona	Neuropatia periférica	Degeneração axonal, edema neurofilamentoso precoce do SNP e da medula espinal
Metronidazol	Neuropatia periférica sensorial, ataxia, convulsões	Degeneração axonal, afetando principalmente as fibras mielinizadas; lesões do núcleo cerebelar
Misonidazol	Neuropatia periférica	Degeneração axonal
Nitrofurantoína	Neuropatia periférica	Degeneração axonal
Compostos organofosforados (inibidores EAN)	Dor abdominal (aguda), neuropatia periférica	Degeneração axonal
Paclitaxel (taxoides)	Neuropatia periférica retardada (motora), espasticidade	Degeneração axonal (retardada após exposição única), do SNP e da medula espinal
Platina (cisplatina)	Neuropatia periférica	Degeneração axonal, em estágios precoces, acúmulo de microtúbulos
Piridinetiona (piritiona)	Distúrbios de movimento (tremor, coreoatetose)	Degeneração axonal (variável)
Vincristina (alcaloides da vinca)	Neuropatia cranial (mais frequente trigeminal), neuropatia periférica, sintomas autonômicos variáveis	Dados insuficientes Degeneração axonal (SNP), alterações neurofibrilares (via intratecal e na medula espinal)

Compostos organofosforados Esses compostos, utilizados como praguicidas e aditivos em plásticos e produtos derivados de petróleo, inibem a acetilcolinesterase e levam a um excesso de atividade colinérgica. Contudo, o tri-orto-cresil fosfato (TOCP) causa grave axonopatia sem induzir intoxicação colinérgica.

Alguns compostos organofosforados hidrofóbicos penetram rapidamente no SN, no qual alquilam ou fosforilam macromoléculas e retardam o início da neurotoxicidade. Enquanto ésteres organofosforados "não tóxicos" inibem a maior parte da atividade da esterase no SN, há outra atividade de esterase, ou *esterase alvo de neuropatia* (EAN), que é inibida pelos ésteres organofosforados neurotóxicos. Além disso, existe uma boa correlação entre a potência de um dado éster organofosforado como um toxicante axonal e sua potência como um inibidor da EAN.

A degeneração de axônios não inicia imediatamente após a exposição aguda a ésteres organofosforados; leva de 7 a 10 dias entre a exposição aguda a altas doses e os sinais clínicos de axonopatia. A lesão axonal no SNP parece ser prontamente reparada, e os nervos periféricos tornam-se refratários à degeneração após doses repetidas. A degeneração axonal ao longo da medula espinal é, no entanto, progressiva.

Piridinationa A zinco piridinationa tem propriedades antibacterianas e antifúngicas e é um componente de xampus que são efetivos no tratamento de seborreia e caspa. Somente a parte da piridinationa é absorvida após a ingestão; sendo a maioria do zinco eliminada nas fezes. A piridinationa parece interferir no sistema de transporte axonal rápido, prejudicar a recuperação das vesículas rapidamente transportadas e retardar o transporte retrógrado de vesículas. A alteração do sistema de transporte axonal rápido provavelmente contribui para o acúmulo de estruturas tubulares e vesiculares no axônio distal (Fig. 16.6). Como esses materiais se acumulam em uma região do axônio, as estru-

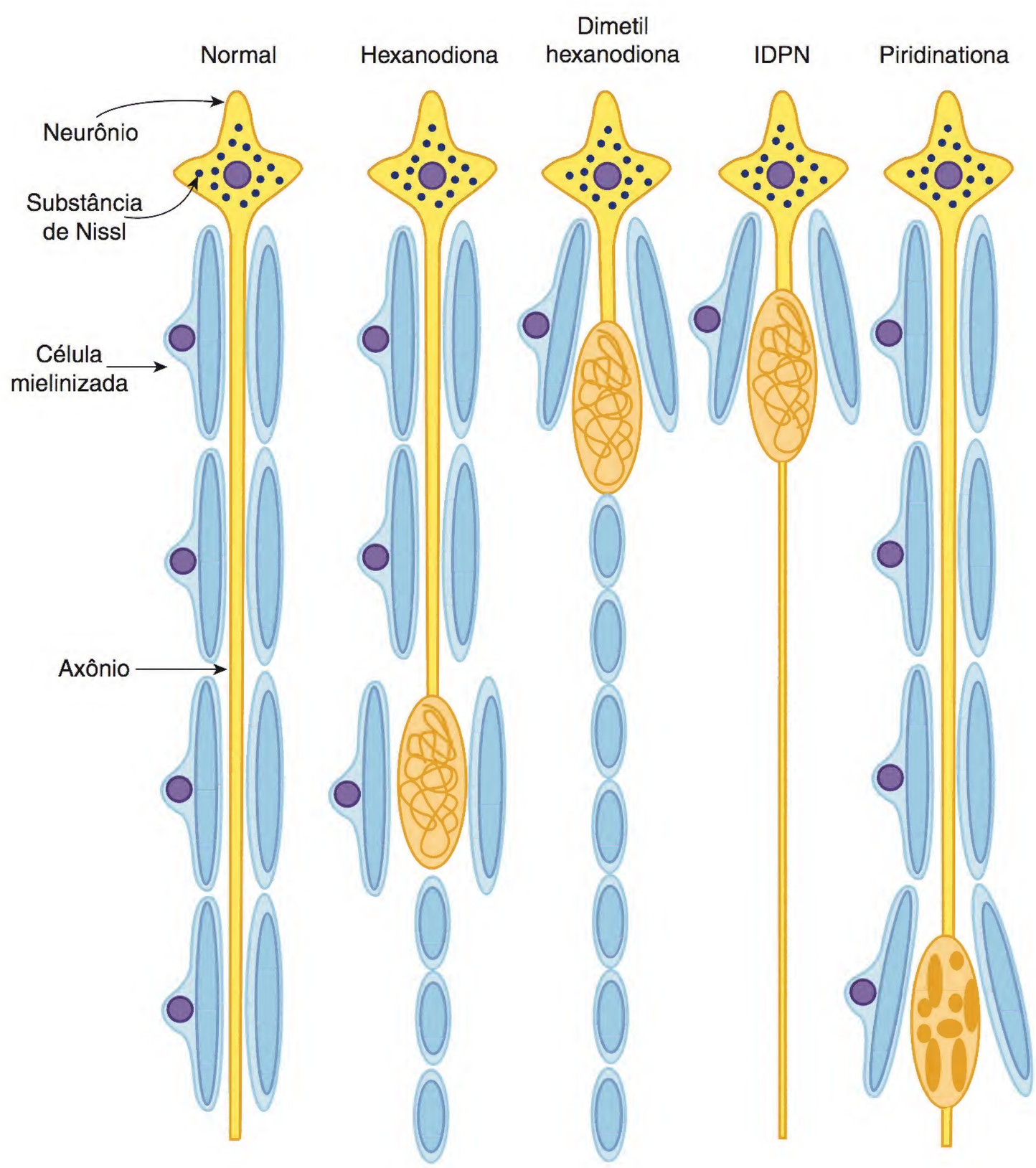


FIGURA 16.6 Diagrama de axonopatias. Enquanto a 2,5-hexanodiona resulta em acumulação de neurofilamentos em regiões distais do axônio, a 3,4-dimetil-2,5-hexanodiona resulta em idêntica acumulação dentro dos segmentos proximais. Esse edema de neurofilamentos proximais é bastante similar àquele que ocorre na toxicidade do β,β'-iminodipropionitrila (IDPN), embora o axônio distal não se degenere na axonopatia por IDPN, mas se torne atrófico. A piridinationa resulta em edema axonal que é distendido com material túbulo-vesicular, seguido por degeneração axonal distal.

TABELA 16.3 Compostos associados com dano de mielina (mielinopatias)

Neurotoxicante	Achados neurológicos	Bases da neurotoxicidade
Acetiltetrametiltetralina (AETT)	Não reportado em humanos; hiperexcitabilidade, tremores (ratos)	Edema intramielínico, acumulação pigmentar em neurônios
Amiodarona	Neuropatia periférica	Degeneração axonal e desmielinização, lisossomos carreadores de lipídeos em células de Schwann
Cuprizona	Não reportado em humanos; encefalopatia (animais experimentais)	Estado de espongiose da substância branca, edema intramielínico (estágios precoces), gliose (tardio)
Dissulfiram	Neuropatia periférica, predominantemente sensorial	Degeneração axonal, edema em axônios distais
Brometo de etídio	Dados insuficientes (humanos)	Edema intramielínico, estado de espongiose da substância branca
Hexaclorofeno	Irritabilidade, confusão, convulsões	Edema cerebral, edema intramielínio no SNC e no SNP, degeneração axonal tardia
Lisolecitina	Efeitos somente sob injeção direta no SNP ou no SNC (animais experimentais)	Desmielinização seletiva
Perexileno	Neuropatia periférica	Neuropatia desmielinizante, inclusões ligadas à membrana nas células de Schwann
Telúrio	Hidrocefalia, paralisia dos membros posteriores (animais experimentais)	Neuropatia desmielinizante, lipofuscinose (animais experimentais)
Trietiltina	Cefaleia, fotofobia, vômitos, paraplegia (irreversível)	Edema cerebral (agudo) com edema intramielínico, espongiose da substância branca

turas acumuladas degeneram-no em suas regiões mais distais. Os primeiros sinais são força de preensão diminuída e alterações do axônio terminal, levando a neuropatia periférica.

Neurotoxicidade associada a microtúbulos Alcaloides da vinca e colchicina, que se ligam à tubulina e inibem a associação dessa subunidade da proteína para formar microtúbulos, produzem neuropatias periféricas em pacientes. Embora geralmente leves, são, muitas vezes, acompanhadas por uma miopatia incapacitante que pode levar à incapacidade de andar. O paclitaxel (Taxol), que estabiliza a forma agregada polimerizada de túbulos, causa axonopatia sensório-motora e neuropatia autonômica em doses elevadas.

A morfologia do axônio é, certamente, diferente nas duas situações. No caso da colchicina, o axônio parece sofrer atrofia, e menos microtúbulos estão presentes nos axônios. Em contraste, seguindo a exposição ao paclitaxel, os microtúbulos estão presentes em grande número e são agregados em matrizes. Ambas as situações provavelmente interferem no processo do transporte axonal rápido e ambas resultam em neuropatia periférica.

Mielinopatias

A mielina fornece isolamento elétrico de processos neuronais, e sua ausência provoca diminuição e alteração da condução de impulsos entre os processos adjacentes. A exposição a toxicantes pode resultar em separação entre as camadas de mielina, denominada *edema intramielínico*, ou perda seletiva de mielina, denominada *desmielinização*. A remielinização no SNC ocorre apenas de forma limitada após a desmielinização. No entanto, as células de Schwann no SNP são capazes de remielinizar os axônios.

Todos os compostos na Tabela 16.3 levam a mielinopatias.

Hexaclorofeno O hexaclorofeno, ou metileno 2,2'-metilenebis (3,4,6-triclorofenol), causou neurotoxicidade quando recém-nascidos foram banhados com o composto para evitar infecções cutâneas estafilocócicas. Após a absorção cutânea desse composto hidrofóbico, o hexaclorofeno penetra no SN e provoca edema intramielínico, o que leva à formação de vacúolos criando uma "espongiose" do cérebro. O hexaclorofeno causa edema intramielínico que leva a desmielinização segmental. O edema cerebral provoca aumento da pressão intracraniana, degeneração axonal e degeneração de fotorreceptores na retina. Humanos que sofrem exposição aguda ao hexaclorofeno podem ter fraqueza generalizada, confusão e convulsões. Pode ocorrer progressão, incluindo coma e morte.

Telúrio A neurotoxicidade do telúrio em ratos jovens altera a síntese de lipídeos da mielina nas células de Schwann devido a várias anormalidades lipídicas. Como ocorrem alterações bioquímicas, os lipídeos acumulam-se nas células de Schwann, que, por fim, perdem sua capacidade de manter a mielina no SNP.

Chumbo A exposição ao chumbo em animais provoca neuropatia periférica com proeminente desmilelinização segmental. Em crianças pequenas, a exposição massiva aguda ao chumbo resulta em edema cerebral grave, talvez em virtude dos danos nas células endoteliais. Crianças absorvem chumbo mais facilmente, e as muito jovens não têm a proteção da barreira hematencefálica.

TABELA 16.4 Compostos associados com toxicidade relacionada a neurotransmissores

Neurotoxicante	Achados neurológicos	Bases da neurotoxicidade
Anfetamina e metanfetamina	Tremor, inquietação (aguda), hemorragia e infarto cerebral, transtornos neuropsiquiátricos	Infarto bilateral do globo pálido, anormalidades nos sistemas dopaminérgico, serotonérgico e colinérgico Age em receptores adrenérgicos (SNP)
Atropina	Inquietação, irritabilidade, alucinações	Bloqueio de receptores colinérgicos (anticolinérgico)
Cocaína	Risco aumentado de acidente vascular encefálico e atrofia cerebral (usuários crônicos), risco aumentado de morte súbita cardíaca, anormalidades de movimento e psiquiátricas, especialmente durante a abstinência Redução da circunferência da cabeça (exposição fetal)	Infarto e hemorragia, alteração na neurotransmissão de dopamina no estriado Malformação estrutural em recém-nascidos
Ácido domoico	Cefaleia, perda de memória, hemiparesia, desorientação, convulsão	Perda neuronal, hipocampo e amígdala, camadas 5 e 6 do neocórtex
Cainato	Dados insuficientes em humanos, convulsões em animais (composto seletivo para lesões seletiva em neurociências)	Degeneração de neurônios no hipocampo, no córtex olfatório, na amígdala e no tálamo Liga-se a receptores AMPA/Cainato
β-*N*-metilamino-L-alanina (BMAA)	Fraqueza, distúrbios de movimento (macacos)	Alterações degenerativas em neurônios motores (macacos) Provável excitotóxico via receptores NMDA
Muscarina (cogumelos)	Náusea, vômito e cefaleia	Liga-se a receptores muscarínicos (colinérgico);
Nicotina	Náusea, vômito e convulsões	Liga-se a receptores nicotínicos (colinérgico), baixas doses estimulam; altas doses bloqueiam
β-*N*-Oxalilamino-L-alanina (BOAA)	Convulsões	Provavelmente excitotóxico, via classe de receptores glutamatérgicos AMPA

Em adultos, a intoxicação crônica pelo metal resulta em neuropatia periférica, gastrite, dor abdominal com cólicas e anemia; a deposição proeminente do metal em locais anatômicos específicos leva à criação de linhas de chumbo nas gengivas e nas epífises dos ossos longos em crianças. O chumbo retarda a condução nervosa nos nervos periféricos de seres humanos. A base da encefalopatia por chumbo é desconhecida, embora tenha sido mostrado um efeito sobre a estrutura e fluidez da membrana de mielina.

Astrócitos

Astrócitos executam e regulam uma ampla gama de funções fisiológicas no SNC. Parecem ser o principal meio de defesa no SNC após a exposição a neurotoxicantes, como um sistema de tamponamento parcial para íons osmoticamente ativos e como um depósito para o sequestro e processamento metabólico de moléculas endógenas e xenobióticos.

Amônia Em altas concentrações no SNC, a amônia produz convulsões, resultantes da ação despolarizante nas membranas das células, enquanto em baixas concentrações causa estupor (letargia) e coma, de acordo com seus efeitos hiperpolarizantes. A intoxicação por amônia está associada a edema astrocítico e alterações morfológicas. Concentrações intracelulares elevadas de amônia também têm sido implicadas na inibição da síntese neuronal do precursor de glutamato, resultando em diminuição da neurotransmissão glutamatérgica, alterações na captação do neurotransmissor (glutamato) e mudanças nas respostas metabólicas mediadas por receptor de astrócitos para sinais neuronais.

Nitroquímicos Nitratos orgânicos são usados para vasodilatação periférica e redução da pressão arterial (nitroglicerina) no tratamento de doenças cardiovasculares. Outros membros da classe têm propriedades neurotóxicas: (1) o 1,3-dinitrobenzeno (DNB) produz lesão gliovascular cujo alvo são os astrócitos da substância cinzenta periaquedutal do tronco cerebral e núcleos superiores cerebelares profundos; (2) o metronidazol está associado com neuropatia periférica caracterizada por parestesias e disestesias.

Neurotoxicidade associada à neurotransmissão

Numerosas toxinas e substâncias químicas sintéticas interagem na comunicação intercelular via processo de neurotransmissão (Tab. 16.4). Esse grupo de compostos pode interromper a transmissão de impulsos, bloquear ou acentuar a comunicação sináptica, bloquear a recaptação de neurotransmissores ou interferir nos sistemas de segundo mensageiro. Como os alvos para esses toxicantes estão localizados por todo o corpo, as respostas não são localizadas; no entanto, são estereotipadas, em que cada membro de uma classe tende a ter efeitos biológicos similares.

Em termos de toxicidade, a curto prazo, a maioria dos efeitos adversos desses toxicantes pode ser vista como interações que são facilmente reversíveis. No entanto, a longo prazo, estão associados a discinesia tardia irreversível ("caretas").

Nicotina A nicotina exerce seu efeito por se ligar a uma subunidade do receptor colinérgico nicotínico. O ato de fumar e doses "farmacológicas" de nicotina aumentam os batimentos cardíacos, elevam a pressão arterial e contraem os vasos sanguíneos da pele como resultado da estimulação ganglionar do SN simpático.

O rápido aumento dos níveis circulantes de nicotina após superdosagem aguda leva a estimulação excessiva do receptor nicotínico, um processo que é seguido rapidamente pela paralisia ganglionar. Náuseas, frequência cardíaca acelerada e sudorese iniciais são logo seguidas por desaceleração acentuada da frequência cardíaca com falha na pressão sanguínea. Sonolência e confusão podem ocorrer, seguidas de coma. Se resultar em morte, esta geralmente é o resultado da paralisia dos músculos da respiração.

A exposição de longa duração a baixos níveis, em contraste, é a mais comum. As complicações dos fumantes incluem doenças cardiovasculares, câncer e doença pulmonar crônica. A exposição crônica à nicotina tem efeitos sobre o desenvolvimento fetal. Com a diminuição do peso ao nascer, os transtornos de *déficit* de atenção são os mais comuns em crianças cujas mães fumavam durante a gestação.

Cocaína e anfetaminas As propriedades euforizantes e aditivas da cocaína são derivadas do aumento da neurotransmissão dopaminérgica, por bloquear o transportador de recaptação da dopamina (DAT). A toxicidade aguda devida a ingestão excessiva ou superdosagem pode resultar em morte súbita.

Embora a cocaína aumente a pressão sanguínea materna durante a exposição aguda em animais prenhes, o fluxo sanguíneo do útero diminui. Dependendo da concentração da droga na mãe, o feto pode desenvolver marcada hipoxia. Mulheres que usam cocaína durante a gestação têm mais abortos e hemorragias placentárias (abruptas) do que mulheres que não usam a droga.

Além dos efeitos deletérios sobre o crescimento e desenvolvimento fetal, o abuso de cocaína está associado com risco aumentado de doença cerebrovascular, deficiências na perfusão sanguínea e atrofia cerebral em adultos, além de alterações neurodegenerativas.

Semelhante à cocaína, as anfetaminas exercem seus efeitos no SNC alterando a neurotransmissão catecolaminérgica competindo pela captação, via transportadores de membrana plasmática, e interrompendo o armazenamento vesicular de dopamina. As anfetaminas estão associadas com risco aumentado de desenvolvimento e crescimento fetal anormal, maior risco de doenças cerebrovasculares e problemas psiquiátricos e neurológicos em usuários crônicos.

Aminoácidos excitatórios O glutamato e outros aminoácidos são neurotransmissores excitatórios no SNC. A toxicidade do glutamato pode ser bloqueada por certos antagonistas glutamatérgicos, e o conceito de que a toxicidade de aminoácidos excitatórios pode estar relacionada a condições como hipoxia, epilepsia e doenças neurodegenerativas tem emergido.

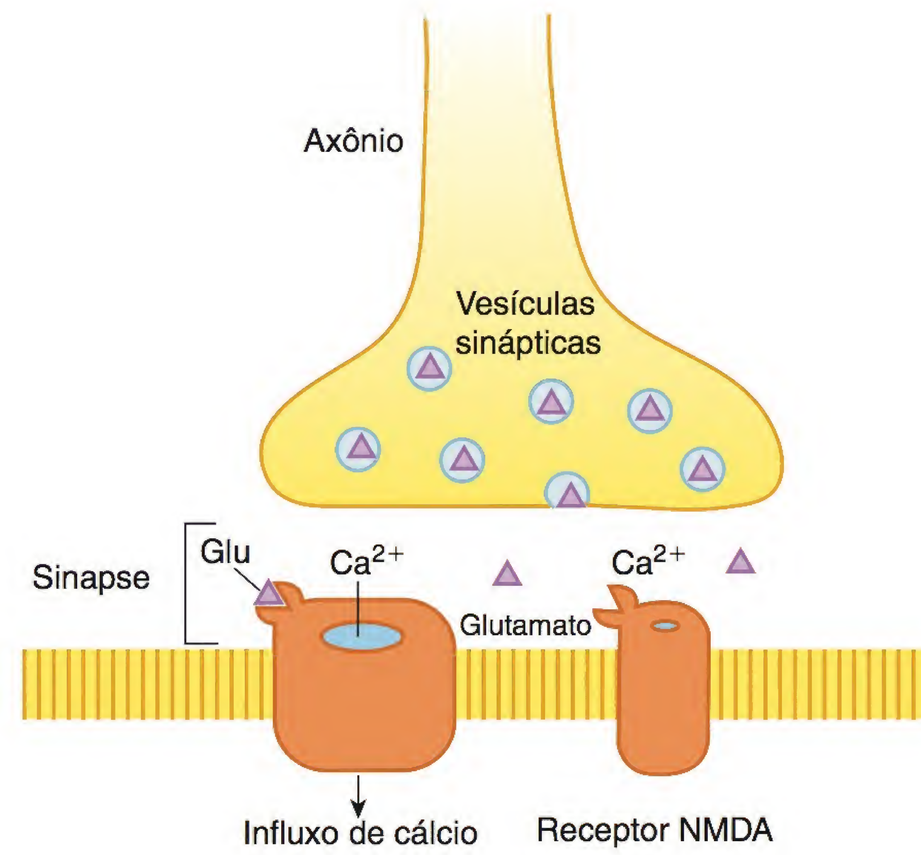


FIGURA 16.7 Diagrama esquemático de uma sinapse. Vesículas sinápticas são transportadas para a terminação do axônio e liberadas através da fenda sináptica para se ligar aos receptores pós-sinápticos. O glutamato, como um neurotransmissor excitatório, liga-se aos seus receptores e abre um canal de cálcio, provocando excitação na célula pós-sináptica.

O glutamato é o principal neurotransmissor excitatório do cérebro, e seus efeitos são mediados por muitos subtipos de receptores (Fig. 16.7), denominados *receptores de aminoácidos excitatórios* (RAAEs). Os dois principais subtipos de receptores glutamatérgicos são aqueles ligados diretamente a canais iônicos (ionotrópicos) e aqueles acoplados a proteínas G (metabotrópicos). Os receptores ionotrópicos podem ainda ser subdivididos por seus ligantes específicos cainato, quisqualato, ácido α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiônico (AMPA) e *N*-metil-D-aspartato (NMDA). A entrada de glutamato no SNC é regulada pela barreira hematencefálica, e o glutamato exerce seus efeitos nos órgãos circunventriculares do cérebro nos quais a barreira hematencefálica é menos desenvolvida. Dentro desse sítio de acesso limitado, o glutamato danifica os neurônios, aparentemente por abrir canais iônicos dependentes de glutamato, levando a edema neuronal e morte celular neuronal. A única condição humana conhecida e relacionada é a "síndrome do restaurante chinês", em que o consumo de grandes quantidades de glutamato monossódico como tempero pode levar a uma sensação de queimação no rosto, no pescoço e no peito.

O cainato, um análogo cíclico do glutamato, isolado de uma alga no Japão, é extremamente potente como uma excitotoxina, sendo cem vezes mais tóxico do que o glutamato e seletivo a nível molecular para o receptor cainato. Semelhante ao glutamato, o cainato interfere seletivamente nos dendritos e neurônios e não mostra nenhum efeito substancial na glia ou nos axônios. Injetado em uma região cerebral, pode destruir os neurônios dessa área sem desregular todas as fibras que passam através da mesma região. O cainato tornou-se uma ferramenta para neurobiologistas explorarem a anatomia e a função do SN. Por meio de sua ação seletiva sobre os corpos de neurônios, tem proporcionado uma maior compreensão das funções de células dentro de uma

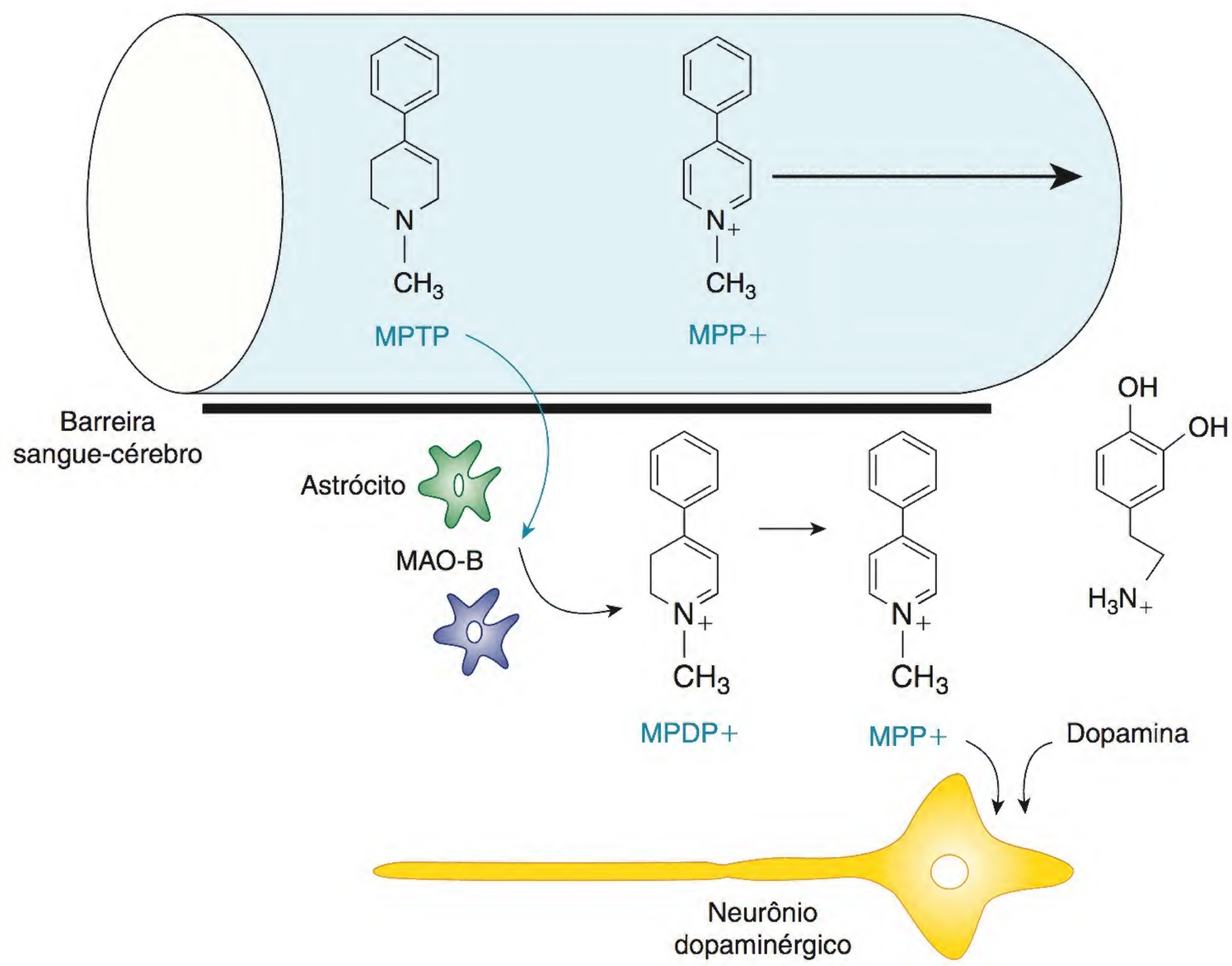


FIGURA 16.8 Toxicidade da MPTP. O MPP^+, tanto formado em algum lugar do corpo após exposição à MPTP ou injetado diretamente no sangue, não consegue atravessar a barreira hematencefálica. Em contraste, a MPTP ganha acesso e é oxidada *in situ* a $MPDP^+$ e MPP^+. O mesmo sistema de transporte que carreia a dopamina para dentro dos neurônios dopaminérgicos também transporta o citotóxico MPP^+.

região específica do cérebro, enquanto técnicas com lesões prévias são direcionadas apenas para funções regionais. Essa lacuna na compreensão e as evidências epidemiológicas de que algumas doenças neurodegenerativas podem ter fatores ambientais inspiram um desejo aumentado para apreciar mais profundamente os efeitos dos elementos do meio ambiente no SN.

Houve desenvolvimento de *déficit* neurológicos permanentes em indivíduos acidentalmente expostos a altas doses do agonista ácido domoico RAAE, um análogo do glutamato. A doença aguda mais comum apresenta-se como distúrbios gastrintestinais, cefaleia e perda de memória de curto prazo. Um subgrupo de pacientes mais gravemente afetados apresentou *déficit* de memória crônica e neuropatia motora. Investigações neuropatológicas de pacientes que morreram dentro de 4 meses após a intoxicação mostraram neurodegeneração, que foi mais proeminente no hipocampo e na amígdala.

Modelos de doença neurodegenerativa

MPTP Um contaminante formado durante a síntese de meperidina, 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP) (Fig. 16.8), produz por várias horas a dias os sinais e sintomas de doença de Parkinson de forma irreversível. Estudos de autópsia têm demonstrado marcada degeneração de neurônios dopaminérgicos na substância negra, que continuam se degenerando por muitos anos após a exposição. Parece que a MPTP é metabolizada a uma molécula que penetra nos neurônios dopaminérgicos da substância negra, resultando na morte destes.

Embora não idêntica, a neurotoxicidade da MPTP e a doença de Parkinson são notavelmente similares. A sintomatologia de cada uma reflete a desregulação da via nigroestriatal: expressão da face como máscara, dificuldade em iniciar e terminar movimentos, tremor de repouso, rigidez e bradicinesia são todas características de ambas as condições.

Manganês Como um metal traço essencial encontrado em todos os tecidos, o manganês (Mn) é requerido para o metabolismo normal de aminoácidos, proteínas, lipídeos e carboidratos, agindo como cofator da síntese de enzimas. A exposição excessiva ao Mn produz neurotoxicidade resultando em distúrbios psicológicos e neurológicos, incluindo delírio, alucinações, depressão, doença de equilíbrio, comportamento compulsivo ou violento, fraqueza e apatia, seguidos por deficiências do sistema motor extrapiramidal, como tremor, rigidez muscular, ataxia, bradicinesia e distonia. A toxicidade do Mn causa perda de neurônios dopaminérgicos na substância negra, e, como na doença de Parkinson, o estresse oxidativo parece ter um papel significativo na toxicidade de manganês.

AGENTES QUÍMICOS QUE INDUZEM DEPRESSÃO DA FUNÇÃO DO SISTEMA NERVOSO

A depressão generalizada do SNC é produzida por uma variedade de solventes voláteis que são pequenas moléculas lipofílicas. Exposições humanas variam desde crônicas a baixos níveis de concentração, encontrados no ambiente ou no contexto ocupacional, a altos níveis de concentração, gerados intencionalmente em virtude do abuso de solventes. Pesquisas recentes têm relacionado as interações com ligantes de canais iônicos, bem como com canais de cálcio voltagem-dependentes, como o mecanismo de depressão generalizada.

REFERÊNCIAS

Bellinger D: *Human Developmental Neurotoxicity.* New York: Taylor and Francis, 2006.

Berent S, Alberts JW: *Neurobehavioral Toxicology: Neuropsychological and Neurological Perspectives.* New York: Taylor and Francis, 2005.

Dobbs MR: Clinical *Neurotoxicology: Syndromes, Substances, Environments.* Philadelphia: Sauders Elsevier, 2009.

Massaro EJ (ed): *Handbook of Neurotoxicology.* Totowa, NJ: Humana Press, 2002.

Webster LR: *Neurotoxicity Syndromes.* New York: Nova Biomedical, 2007.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes informações sobre os axônios e/ou o transporte axonal é FALSA?
   a. Células nervosas simples podem ter mais de 1 m de comprimento.
   b. O transporte axonal rápido é responsável por movimentos de proteínas ao longo do corpo celular do axônio.
   c. O transporte anterógrado é realizado pela proteína cinesina.
   d. As proteínas motoras, cinesina e dineína, são associadas a microtúbulos.
   e. A maioria do ATP nas células nervosas é usada para o transporte axonal.

2. Qual das seguintes informações não é característica das células de Schwann na degeneração walleriana?
   a. Células de Schwann fornecem a orientação necessária para a regeneração axonal.
   b. Células de Schwann lançam fatores tróficos que estimulam o crescimento.
   c. Células de Schwann agem na limpeza dos restos de mielina com o auxílio de macrófagos.
   d. Células de Schwann aumentam a síntese dos lipídeos de mielina na resposta ao dano axonal.
   e. Células de Schwann são responsáveis pela mielinização dos axônios no sistema nervoso periférico.

3. A exposição pré-natal ao etanol pode resultar em retardo mental e *déficit* auditivo em recém-nascidos. Qual é a base celular da neurotoxicidade?
   a. Perda neuronal no cerebelo
   b. Hemorragia cortical aguda
   c. Microcefalia
   d. Perda de neurônios hipocampais
   e. Degeneração de gânglios da base

4. Qual das seguintes características é MENOS propensa a colocar um neurônio em risco de dano tóxico?
   a. Alta taxa metabólica
   b. Capacidade de liberação de neurotransmissores
   c. Longos processos neuronais suportados pelo soma
   d. Membranas excitáveis
   e. Grande área de superfície

5. O uso de meperidina contaminada com MPTP poderá resultar em neurotoxicidade similar à doença de Parkinson. Qual o local no cérebro mais provável em que o MPTP exerça seus efeitos tóxicos?
   a. Cerebelo
   b. Córtex cerebral
   c. Tronco cerebral
   d. Substância negra
   e. Hipocampo

6. Qual das seguintes informações sobre o SNP e o SNC é VERDADEIRA?
   a. A transdução do impulso nervoso é mais rápida no SNC do que no SNP.
   b. Axônios do SNP podem se regenerar, entretanto, axônios do SNC não podem.
   c. A remielinização não pode ocorrer no SNC.
   d. Oligodendrócitos realizam a remielinização no SNP.
   e. No SNC, oligodendrócitos interferem na cicatrização com regeneração axonal.

7. A platina (cisplatina) resulta em qual dos seguintes problemas neurológicos?
   a. Neuropatia periférica
   b. Neuralgia trigeminal
   c. Espasticidade
   d. Marcha atáxica
   e. Tremor

8. Qual das seguintes informações NÃO é característica de axonopatia?
   a. Há degeneração do axônio.
   b. O corpo celular do neurônio permanece intacto.
   c. A axonopatia resulta de uma transecção química do neurônio.
   d. A maioria dos toxicantes axonais causa *déficits* motores.
   e. *Déficits* motores e sensoriais, seguintes à degeneração axonal, são percebidos primeiramente nas mãos e nos pés.

9. Todas as informações que seguem sobre a exposição ao chumbo são verdadeiras, EXCETO:
   a. A exposição ao chumbo resulta em neuropatia periférica.
   b. O chumbo retarda a condução em nervos periféricos em humanos.
   c. O chumbo causa a transecção de axônios periféricos.
   d. A desmielinização segmental é um resultado comum da ingestão de chumbo.
   e. A toxicidade do chumbo pode resultar em anemia.

10. Em relação aos aminoácidos excitatórios, qual das seguintes informações é FALSA?
    a. O glutamato é o aminoácido excitatório mais comum no SNC.
    b. A excitotoxicidade tem sido relacionada a condições como a epilepsia.
    c. Um superconsumo de glutamato monossódico (GMS) pode resultar em formigamento ou sensação de queimação na face e no pescoço.
    d. Um receptor ionotrópico de glutamato é acoplado à proteína G.
    e. O glutamato é tóxico para os nervos.

CAPÍTULO

17

Respostas Tóxicas do Sistema Ocular e Visual*

Donald A. Fox e William K. Boyes

INTRODUÇÃO À TOXICOLOGIA DO SISTEMA OCULAR E VISUAL

EXPOSIÇÃO DO OLHO E SISTEMA VISUAL

- **Farmacodinâmica e farmacocinética ocular**
- **Metabolismo ocular de xenobióticos**
- **Farmacocinética do sistema visual central**

AVALIANDO A FUNÇÃO VISUAL

- **Avaliação da irritação e da toxicidade ocular**
- **Avaliações oftalmológicas**
- **Técnicas eletrofisiológicas**
- **Técnicas comportamentais e psicofísicas**

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: CÓRNEA

- **Ácidos**
- **Bases ou álcalis**
- **Solventes orgânicos**
- **Surfactantes**

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: CRISTALINO

- **Luz e fototoxicidade**
- **Corticosteroides**
- **Naftaleno**
- **Fenotiazinas**

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: RETINA

- **Retinotoxicidade de substâncias terapêuticas administradas sistemicamente**
  - Quimioterapias para câncer
  - Cloroquina e hidroxicloroquina
  - Digoxina e digitoxina
  - Indometacina
  - Tamoxifeno
- **Retinotoxicidade de neurotoxicantes conhecidos**
  - Chumbo inorgânico
  - Metanol
  - Solventes orgânicos
  - Organofosforados

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: NERVO E TRATO ÓPTICOS

- **Dissulfeto de carbono**
- **Etambutol**

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: SISTEMA VISUAL CENTRAL

- **Chumbo**
- **Metilmercúrio**

---

* N de T.: Este capítulo foi revisado pelo National Health and Environmental Effects Research Laboratory, U.S. EPA, e aprovado para publicação.

PONTOS-CHAVE

- Produtos químicos tóxicos e medicamentos sistêmicos podem afetar todas as partes do olho, incluindo córnea, íris, corpo ciliar, cristalino, retina e nervo óptico.
- Procedimentos oftalmológicos para avaliar a saúde do olho incluem avaliações de *screening* utilizando-se um biomicroscópio de lâmpada de fenda e um oftalmoscópio e um exame do reflexo pupilar à luz.
- A maioria dos procedimentos eletrofisiológicos ou neurofisiológicos para testar a função visual após a exposição a xenobióticos envolve a estimulação dos olhos com estímulos visuais e potenciais eletricamente graváveis gerados pelos neurônios visualmente sensíveis.

INTRODUÇÃO À TOXICOLOGIA DO SISTEMA OCULAR E VISUAL

A exposição ambiental e ocupacional a produtos químicos tóxicos, gases e vapores, bem como os efeitos colaterais de fármacos, resultam, com frequência, em alterações estruturais e funcionais nos olhos e no sistema visual central. A retina e o sistema visual central são especialmente vulneráveis a dano tóxico.

EXPOSIÇÃO DO OLHO E SISTEMA VISUAL

Farmacodinâmica e farmacocinética ocular

Produtos químicos tóxicos e medicamentos sistêmicos podem afetar todas as partes do olho (Fig. 17.1; Tab. 17.1). Fatores que determinam se um produto químico pode alcançar um sítio particular de ação ocular incluem as propriedades físico-químicas da substância, a concentração, o tempo de exposição e o movimento pelas barreiras e pelos compartimentos oculares. A córnea, a conjuntiva e as pálpebras são expostas com frequência diretamente a produtos químicos, gases e partículas. O primeiro sítio de ação é o filme lacrimal, uma estrutura de três camadas com propriedades hidrofóbicas e hidrofílicas. A camada fina mais externa do filme lacrimal é formada pela secreção das glândulas de meibômio (sebáceas). Essa camada lipídica superficial protege a camada subjacente mais espessa de base aquosa que é produzida pelas glândulas lacrimais. A terceira camada é uma camada mucoide muito fina que é secretada por células caliciformes da conjuntiva e atua como uma interface entre a camada hidrofílica das lágrimas e a camada hidrofóbica das células epiteliais da córnea.

A córnea avascular é considerada a barreira externa para as estruturas oculares internas. Uma maior absorção sistêmica ocorre pelo contato com a conjuntiva vascularizada (Fig. 17.2). A córnea humana tem várias camadas distintas pelas quais um xenobiótico deve passar a fim de alcançar a câmara anterior. A primeira é o epitélio corneano de células estratificadas pavimentosas não queratinizadas, com junções estreitas. A permeabilidade do epitélio corneano é baixa, e somente substâncias químicas lipossolúveis passam prontamente por ela. A membrana de Bowman separa o epitélio do estroma. O estroma corneano compõe 90% da espessura corneana, sendo constituído de água, colágeno e glicosaminoglicanos, os quais permitem que substâncias hidrofílicas se dissolvam facilmente nessa camada espessa. A borda interna do estroma corneano é limitada por uma fina membrana basal, chamada membrana de Descemet, que é secretada pelo endotélio corneano. A camada mais interna da córnea, o endotélio corneano, é composta de uma única camada de células que estão rodeadas por membranas lipídicas. A permeabilidade das células endoteliais da córnea a substâncias químicas ionizadas é relativamente baixa.

Os dois sistemas vasculares do olho são: (1) vascularização sanguínea da úvea, que inclui os leitos vasculares da íris, o corpo ciliar e coroide, e (2) vascularização retiniana. No segmento anterior do olho há uma barreira hematoaquosa com junções relativamente estreitas entre as células endoteliais dos capilares da íris e células não pigmentadas do epitélio ciliar. A principal função do epitélio ciliar é a produção de humor aquoso a partir do filtrado do plasma presente nos processos ciliares.

Em humanos e em vários animais de experimentação amplamente utilizados (p. ex., macacos, porcos, cães, ratos e camundongos), a retina tem fonte dupla de suprimento circulatório: coroidal e retiniana. A retina consiste em uma camada plexiforme exterior (CPE), camada nuclear interna (CNI), camada plexiforme interna (CPI) e camada de células ganglionares (CCG). As células endoteliais de capilares da vascularização retiniana têm junções estreitas formando a barreira hematorretiniana. No entanto, ao nível do disco óptico, essa barreira é ausente, e, assim, moléculas hidrofílicas podem entrar na cabeça do nervo óptico (NO) por difusão a partir do espaço extravascular e causar danos seletivos nesse local de ação. A retina exterior ou distal, que consiste no epitélio pigmentar da retina (EPR), em fotorreceptores cone e bastonetes dos segmentos externo e interno, e no fotorreceptor da camada nuclear externa são avasculares. Essas áreas da retina são irrigadas pelos coriocapilares: uma densa rede vascular formada por pequenas artérias ciliares posteriores localizada ao lado do EPR. Esses capilares, consistentemente com suas estruturas e funções conhecidas, têm junções endoteliais frouxas e abundantes retículos; são altamente permeáveis às proteínas de grande porte.

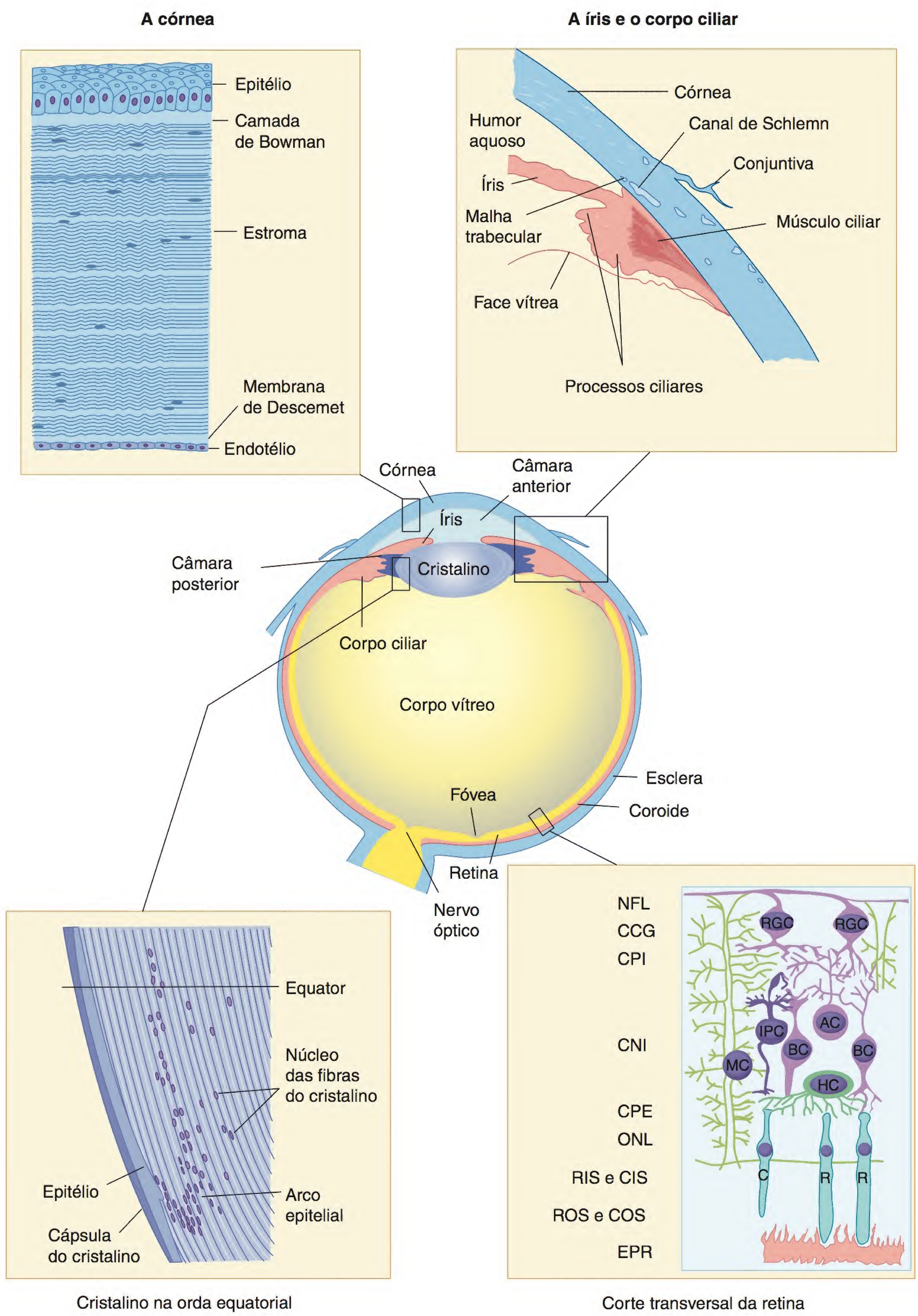


FIGURA 17.1 Diagrama da secção horizontal do olho, com ampliação de média potência de detalhes para córnea, íris e corpo ciliar, cristalino e retina. As características morfológicas, seu papel na farmacodinâmica e na farmacocinética ocular, o metabolismo e os efeitos adversos dos xenobióticos nesses locais são discutidos no texto.

TABELA 17.1 Locais de ação nos olhos e no sistema visual central após exposição sistêmica a xenobióticos selecionados

Xenobiótico	Córnea	Cristalino	Retina periférica: EPR	Retina periférica: bastonetes e cones	Retina central: CBs, CAs, CPIs	CGRs, nervo ou trato óptico	NGL, córtex visual
Acrilamida				−	−	++	++
Amiodarona	+	+				+	
Dissulfeto de carbono				+	−	++	+
Cloroquina	+		+	+		+	
Clorpromazina	+	+	+	+			
Corticosteroides		++				+	
Digoxina e digitoxina	+	+	+	++		+	+
Etambutol				+		++	
Hexaclorofeno				+		+	+
Indometacina	+		+	+			
Isotretinoína	+						
Chumbo	+		+	++	+	+	+
Metanol			+	++	−	++	+
Metilmercúrio, mercúrio				+	−	−	++
N-hexano			+	+		+	
Naftaleno		+		+			
Solventes orgânicos				+			+
Organofosforados		+		+		+	+
Estireno				+			
Tamoxifeno	+			+		+	

EPR = epitélio pigmentar da retina; CB = célula bipolar; CA = célula amácrina; CPI = célula plexiforme interna; CGR = célula ganglionar da retina; NGL = núcleo geniculato lateral. "+" e "-" indicam que esse local de ação foi citado como afetado positivamente ou não afetado pela exposição ao xenobiótico.

Após a exposição sistêmica a fármacos e produtos químicos por vias inalatória, oral, dérmica ou parenteral, esses compostos são distribuídos pelo sangue para todas as partes do olho por meio dos vasos sanguíneos da úvea e da retina (Fig. 17.3). A maioria dos xenobióticos entra rapidamente em equilíbrio com o espaço extravascular da coroide, onde são separados da retina e do corpo vítreo pelo EPR e pelas células endoteliais dos capilares da retina, respectivamente. Moléculas hidrofílicas com peso molecular inferior a 200 a 300 Da podem atravessar o epitélio ciliar e capilares da íris e entrar no humor aquoso. Assim, o endotélio corneano – células responsáveis pela manutenção da hidratação normal e pela transparência do estroma corneano – poderia ser exposto a xenobióticos pelo humor aquoso e capilares límbicos. Da mesma forma, a superfície anterior do cristalino também pode estar exposta como resultado de seu contato com o humor aquoso. Após a administração sistêmica de medicamentos e exposição a xenobióticos, os sítios de ação retinianos mais prováveis são o EPR e os fotorreceptores, porque as células endoteliais do coriocapilar são permeáveis a proteínas menores do que 50 a 70 kDa. No entanto, as células do EPR são unidas em sua superfície basolateral por junções apertadas que limitam a penetração passiva de grandes moléculas na retina neural.

A melanina intraocular desempenha um papel especial na toxicologia ocular. Primeiro, é encontrada em vários locais diferentes do olho: células pigmentadas da íris, corpo ciliar, EPR e trato da úvea. Segundo, tem alta afinidade de ligação com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, eletrófilos, cálcio e metais pesados tóxicos, tais como alumínio, ferro, chumbo e mercúrio. Embora isso inicialmente possa ter uma função protetora, o acúmulo excessivo, a retenção por período prolongado e a lenta liberação de numerosos fármacos e outros xenobióticos da ligação com a melanina podem influenciar a toxicidade.

Metabolismo ocular de xenobióticos

O metabolismo de xenobióticos ocorre em todos os compartimentos do olho pelas bem conhecidas enzimas de fase I e II para biotransformação de xenobióticos. A Tabela 17.2 relaciona

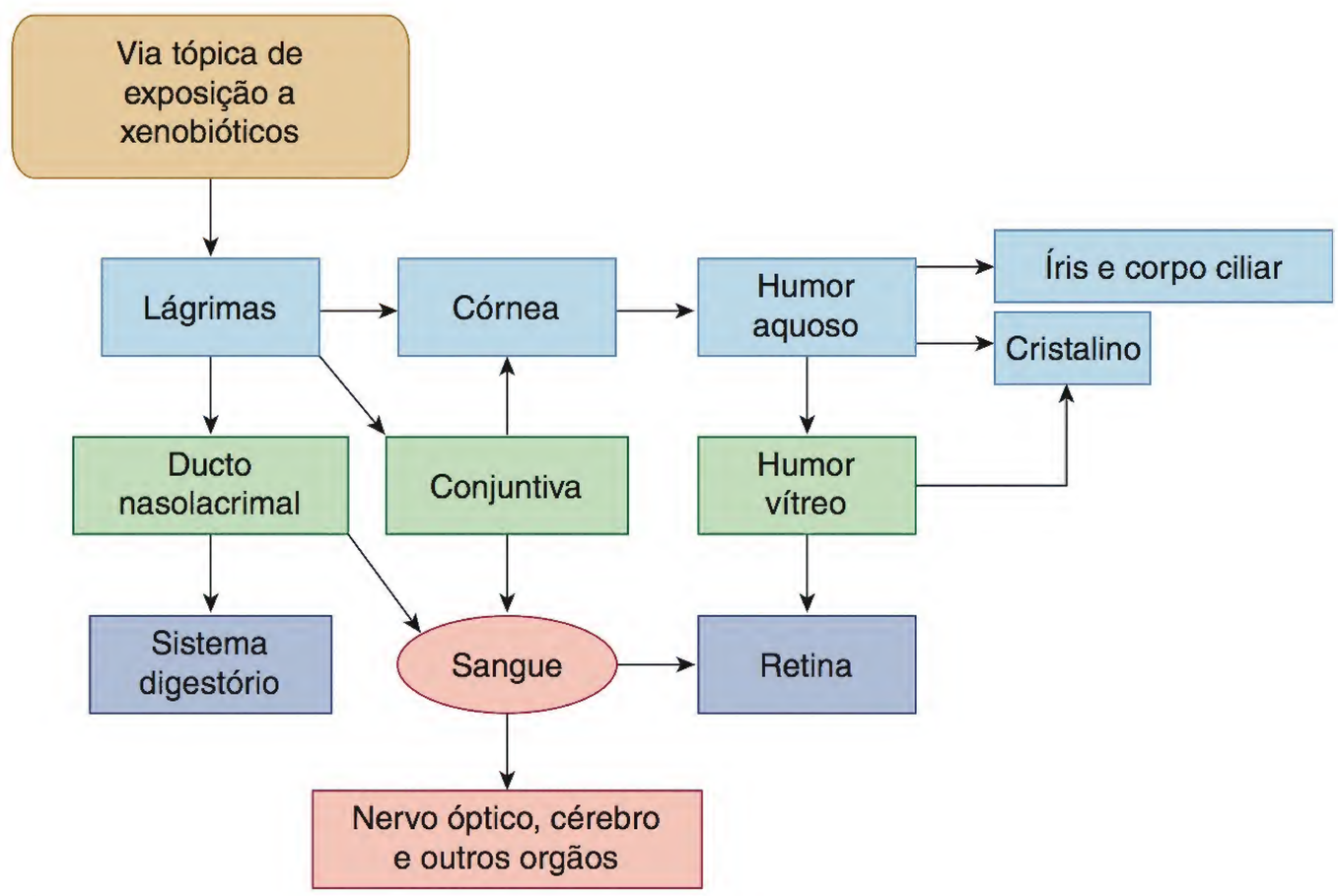


FIGURA 17.2 Absorção e distribuição ocular de xenobióticos após exposição tópica. No texto, são discutidos os detalhes dos movimentos dos xenobióticos entre os compartimentos do olho e subsequentemente para o nervo óptico, o cérebro e outros órgãos.

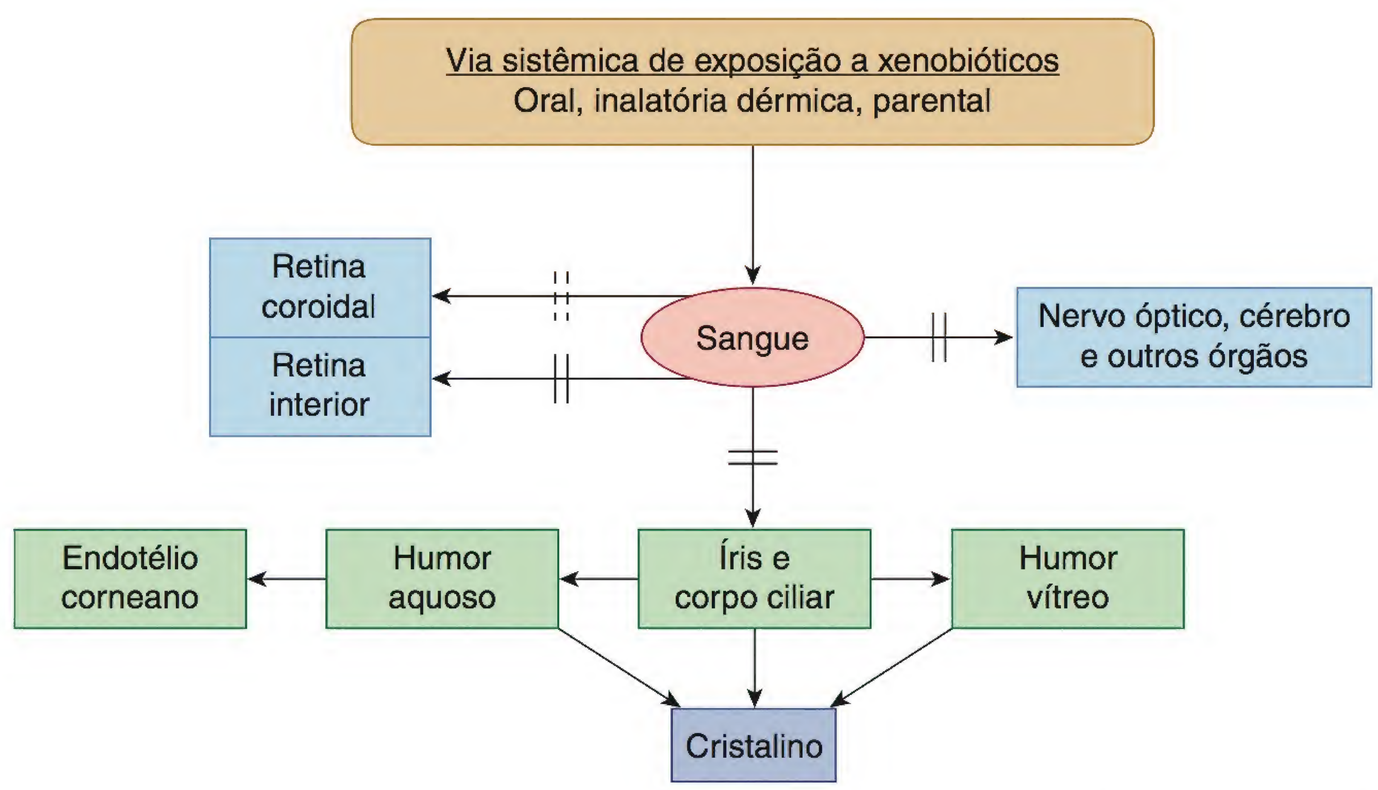


FIGURA 17.3 Distribuição de xenobióticos nos segmentos anterior e posterior dos olhos, do nervo óptico, do cérebro e de outros órgãos após exposição pela via sistêmica. Os detalhes dos movimentos dos xenobióticos entre os compartimentos dos olhos são discutidos no texto. As linhas sólidas e as duplamente segmentadas representam as diferentes barreiras sangue-tecido presentes no segmento anterior dos olhos, da retina, do nervo óptico e do cérebro. As duplas sólidas representam as junções endoteliais estreitas, enquanto as duplas segmentadas representam as junções endoteliais frouxas.

as enzimas que metabolizam xenobióticos e que estão presentes nas lágrimas, na íris e no corpo ciliar, na coroide e na retina de muitas espécies. Enquanto a atividade dessas enzimas varia entre espécies e tecidos oculares, lentes, córnea e cristalino têm baixa atividade de biotransformação.

Farmacocinética do sistema visual central

A penetração de compostos potencialmente tóxicos em áreas visuais do sistema nervoso central (SNC) é controlada pela barreira hematencefálica (Fig. 17.3). Em alguns casos, compostos tóxicos podem ser ativamente transportados para o cérebro por mimetização dos substratos naturais dos sistemas de transporte ativo. Uma área do cérebro sem a barreira hematencefálica é o nervo óptico próximo da lâmina crivosa, o que poderia levar essa parte do sistema visual central a ser vulnerável a riscos que não afetam a grande parte restante do cérebro.

AVALIANDO A FUNÇÃO VISUAL

Avaliação da irritação e da toxicidade ocular

O chamado teste Draize, com algumas adições e revisões, forma a base de procedimentos padrão empregados na avaliação de irritação ocular e na avaliação de segurança. Tradicionalmente, os

TABELA 17.2 Distribuição de enzimas de biotransformação ocular de xenobióticos

Enzimas	Lágrimas	Córnea	Íris/Ciliar	Cristalino	Retina	Coroide
Reações de fase I						
Acetilcolinesterase (ACHE)	+		+		+	+
Álcool desidrogenase		+		−	+	+
Aldeído desidrogenase		+		+	+	+
Aldeído redutase		+	+	+	+	+
Aldose redutase		+		+	+	
Carboxilesterase	+	+	+		+	+
Catalase	−	+	+	+	+	+
Cu/Zn superóxido desmutase	+	+		−/+	+	
CYP1A1 ou CYP1A2	+	+	+	−	+	+
CYP1B1		+	+	+	+	
CYP2B1 ou CYP2B2				+	+	
CYP2C11				+		
CYP3A1				+	+	
CYP4A1 ou CYP4B2		+	+		+	
CYP27A1					+	
MAO-A ou MAO-B	+		+		+	+
Reações de fase II						
Glutationa peroxidase	−	+	+	+	+	+
Glutationa redutase		+		+	+	
Glutationa *S*-transferase		+	+	+	+	
Sulfotransferases				+	+	
UDP-glicuronosiltransferases				+	+	
N-acetiltransferase		+	+	+	+	+

"+" e "–" indicam que a enzima estava presente (localizada por imuno-histoquímica, microscopia eletrônica *imunogold*, Western blot ou expressão gênica) ou ausente, respectivamente, em humanos, macacos ou tecidos de roedores.

coelhos albinos são os sujeitos avaliados no teste. O procedimento envolve a instilação de 0,1 mL de um líquido ou 100 mg de um sólido no saco conjuntival de um olho seguida pelo ato de segurar o olho fechado durante 1 segundo. O olho não tratado serve de controle. Ambos os olhos são avaliados em 1, 24, 48 e 72 horas após o tratamento. Se ainda houver evidência de dano no olho tratado após 72 horas, o tempo de exame pode ser prolongado. A córnea, a íris e a conjuntiva são avaliadas e pontuadas de acordo com uma escala ponderada. A córnea é pontuada pelo grau de opacidade e a área afetada, sendo que cada medida tem uma gama de potencial que vai de 0 (nenhum) a 4 (mais grave). A íris recebe uma pontuação única (0 a 2) para irritação, incluindo o grau de inchaço, a congestão e o grau de reação à luz. A conjuntiva é pontuada pela vermelhidão (0 a 3), quemose (inchaço: 0 a 4) e descarga (0 a 3). As pontuações individuais são, então, multiplicadas por um fator de ponderação: 5 para a córnea, 2 para a íris e 5 para a conjuntiva. Os resultados são somados para uma pontuação máxima total de 110 pontos. Nessa escala, a córnea responde por 73% do total de pontos possíveis, conforme a gravidade associada à lesão da córnea.

O teste Draize tem sido criticado por vários motivos, incluindo a alta variabilidade interlaboratorial, a natureza subjetiva da pontuação, o fraco valor preditivo para agentes irritantes para humanos e por causar dor indevida e sofrimento para os animais testados. Essas críticas geraram o desenvolvimento de métodos alternativos ou estratégias para avaliar compostos por seu potencial para causar irritação ocular.

Avaliações oftalmológicas

Há muitos procedimentos oftalmológicos para avaliar a saúde do olho. Os procedimentos disponíveis vão desde *screening* rotineiro até técnicas sofisticadas para fins bem específicos. Exames das partes anatômicas auxiliares do órgão incluem avaliação das pálpebras, do aparelho lacrimal e das conjuntivas palpebral (cobrindo as pálpebras) e bulbar (cobrindo o olho). As estruturas anteriores ou do segmento anterior incluem a córnea, a íris, o cristalino e a câmara anterior. As estruturas posteriores, denominadas de *fundo do olho*, incluem a retina, a vasculatura da retina, a coroide, o nervo óptico e a esclera. As partes auxiliares e a superfície da córnea podem ser examinadas inicialmente a olho nu, com uma fonte de luz ou um biomicroscópio de lâmpada de fenda, usando um medicamento midriático (que causa dilatação da pupila), caso se queira observar o cristalino. A largura da reflexão de um fino feixe de luz projetado a partir da fenda da lâmpada é uma indicação da espessura da córnea e pode ser utilizada para avaliar edema de córnea. Lesões da córnea podem ser mais bem visualizadas com o uso do corante fluoresceína, que é retido onde há uma ulceração do epitélio corneano. O exame do fundo do olho requer o uso de um medicamento midriático e um oftalmoscópio direto ou indireto.

Um exame oftalmológico do olho também pode incluir um exame do reflexo pupilar à luz. O reflexo pupilar direto envolve incidir uma luz brilhante no olho e observar o reflexo da constrição da pupila no mesmo olho. O reflexo pupilar consensual é observado no olho não estimulado. Ambos os reflexos, direto ou consensual da pupila à luz, são dependentes da função de um arco reflexo envolvendo células na retina, o qual viaja pelo nervo óptico, pelo quiasma óptico e pelo trato óptico para projetar aos neurônios na área pretectal. A ausência de reflexo pupilar é indicativa de dano em algum lugar do caminho reflexo, e o comprometimento diferenciado dos reflexos direto ou consensual pode indicar a localização da lesão. A presença de um reflexo pupilar à luz, no entanto, não é sinônimo de função visual normal. Reflexos pupilares podem ser mantidos mesmo com danos substanciais na retina. Além disso, lesões em áreas visuais fora da via reflexa, como no córtex visual, também podem deixar a função de reflexo intacta.

Técnicas eletrofisiológicas

A maioria dos procedimentos eletrofisiológicos ou neurofisiológicos para testar a função visual em um contexto toxicológico envolve estimular os olhos com estímulos visuais e gravar eletricamente os potenciais gerados por neurônios visualmente sensíveis. Os procedimentos mais utilizados são o eletrorretinograma de campo total (ERG), o potencial evocado visual (PEV) e, com menos frequência, o eletro-oculograma (EOG).*

Os ERGs são, em geral, extraídos com um breve *flash* de luz e registrados a partir de um eletrodo colocado em contato com a córnea.

A onda típica de um ERG inclui uma onda-a que reflete a ativação de fotorreceptores e uma onda-b que reflete a atividade das células bipolares da retina e as alterações potenciais associadas à membrana em células Müller. Um conjunto padrão de procedimentos ERG inclui a gravação de (1) uma resposta refletiva apenas da função dos fotorreceptores bastonetes no olho adaptado ao escuro, (2) a resposta máxima no olho adaptado ao escuro, (3) uma resposta desenvolvida pelos fotorreceptores cones, (4) potenciais oscilatórios e (5) a resposta à luz com rápida tremulação.

Os PEVs produzidos por *flashes* de luz são registrados a partir de eletrodos sobrejacentes ao córtex visual (estriado) e refletem a atividade da via retinogeniculostriada e a atividade de células no córtex visual. Os PEVs padrão (PEPs), que são amplamente utilizados em avaliações clínicas humanas, têm valor de diagnóstico.

O EOG é gerado por uma diferença de potencial entre a parte da frente e a parte de trás do olho, a qual se origina principalmente dentro do EPR. A magnitude do EOG é uma função do nível de iluminação e do estado de saúde do EPR. Eletrodos colocados na pele em uma linha lateral ou vertical ao olho medem as mudanças potenciais correlacionadas com os movimentos dos olhos, conforme a posição relativa do dipolo ocular muda. Assim, o EOG encontra aplicações na avaliação de ambos, do *status* do EPR e na medida dos movimentos dos olhos. O EOG é também utilizado no monitoramento de movimentos dos olhos durante a gravação de outros potenciais do cérebro, de modo que artefatos do movimento dos olhos não sejam mal interpretados como atividade elétrica gerada no cérebro.

Técnicas comportamentais e psicofísicas

Procedimentos de testes comportamentais costumam variar os parâmetros do estímulo visual e, assim, determinam se o indivíduo pode discriminar ou perceber o estímulo. A *sensibilidade ao contraste* refere-se à capacidade de perceber pequenas diferenças em contraste de luminância, tais como a diferença entre tons sutis de cinza ou uma série de padrões visuais que diferem em tamanho padrão, ou as mudanças de luminosidade através do padrão em um perfil sinusoidal. Funções de sensibilidade ao contraste dependem principalmente das propriedades neurais em oposição às propriedades ópticas do sistema visual. A avaliação da acuidade visual e da sensibilidade ao contraste tem sido recomendada para estudos de campo de seres humanos potencialmente expostos a substâncias neurotóxicas.

Deficiências na visão de cores são hereditárias ou adquiridas. A maioria das deficiências de visão de cores adquiridas, como as causadas por exposição a xenobióticos, começa com habilidade reduzida para discriminar as cores azul-amarelo. Da mesma forma, com o aumento da exposição ou com exposição prolongada a baixos níveis, a confusão de cores pode progredir para o eixo vermelho-verde. Devido à raridade de tritanopia herdada, costuma ser aceito que deficiências azul-amarelo, quando observadas, são deficiências adquiridas. Em geral, distúrbios da retina exterior produzem deficiências azul-amarelo, enquanto distúrbios da retina interna e do nervo óptico produzem deficiência na percepção de vermelho-verde. Lesões bilaterais do córtex visual também podem levar à cegueira de cor.

Estimativas da visão de cores em avaliações toxicológicas em humanos incluem o teste Farnsworth-Munson 100 Hue (FM-100) e o teste simplificado 15-*chip* utilizando-se as cores saturadas da Farnsworth D-15 ou os tons não saturados do Painel

* N. de T.: O eletrorretinograma de campo total (ERG) permite estudar a resposta da retina a estímulos luminosos. É útil no diagnóstico diferencial de diversas doenças retinianas, como distrofia de cones e retinose pigmentar. O potencial evocado visual (PVE) é um teste eletrofisiológico que avalia a condução de impulsos elétricos originados por estímulos luminosos da retina, do nervo óptico ao córtex do cérebro. O eletro-oculograma (EOG) é um exame que avalia a vitalidade de certas camadas da retina: epitélio pigmentar e fotorreceptores (cones e bastonetes); é importante em doenças distróficas da retina, como a retinose pigmentar.

Lanthony Dessaturado D-15. O procedimento Farnsworth-Munson envolve o arranjo de 85 *chips* a fim de, progressivamente, ir mudando de cor. O valor cromático de sucessivos *chips* induz as pessoas com deficiência de percepção de cor a arranjá-los de forma anormal. O padrão é indicativo da natureza da anomalia na percepção das cores. O teste FM-100 é considerado mais confiável para diagnóstico, mas leva muito mais tempo para ser aplicado do que os semelhantes, porém mais eficientes, testes de Farnsworth e Lanthony. Os tons não saturados do Lanthony D-15 são projetados para identificar melhor uma deficiência sutil adquirida de visão de cor.

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: CÓRNEA

A córnea apresenta três funções essenciais: primeiro, deve fornecer uma superfície de refração clara, sua curvatura deve ser correta para a imagem visual ser focada na retina; segundo, a córnea fornece resistência à tração para manter a forma apropriada do globo ocular; e, terceiro, ela protege o olho de fatores externos, incluindo produtos químicos potencialmente tóxicos.

A córnea é transparente para comprimentos de onda de luz na faixa entre 310 nm (UV) e 2.500 nm (IR). A exposição à luz UV abaixo dessa faixa pode danificá-la. É mais sensível aos comprimentos de onda de aproximadamente 270 nm. A exposição excessiva aos raios UV provoca fotoqueratite e patologia da córnea, sendo o exemplo clássico as queimaduras por arco de Welder. Além disso, a córnea pode ser danificada pela exposição tópica ou sistêmica a xenobióticos.

A exposição direta a xenobióticos requer atenção médica de emergência. Produtos com pH extremos ($\leq 2{,}5$ ou $\geq 11{,}5$) podem causar danos oculares graves e perda permanente de visão. Danos que se estendem até o endotélio corneano estão associados com fraca reparação e recuperação. A terapia mais importante é a irrigação adequada e imediata com grandes quantidades de água ou soro fisiológico, o que estiver mais prontamente disponível. A extensão do dano aos olhos e a capacidade de alcançar uma recuperação total são dependentes da natureza do produto químico, da concentração e da duração da exposição e da velocidade e magnitude da irrigação inicial.

Ácidos

Entre os xenobióticos mais importantes em termos de tendência para causar danos oculares estão o ácido fluorídrico, o ácido sulfuroso, o ácido sulfúrico e o ácido crômico, seguidos pelo ácido clorídrico e o ácido nítrico e, por fim, o ácido acético. As lesões podem ser leves se o contato for com ácidos fracos ou com soluções diluídas de ácidos fortes. Compostos com pH entre 2,5 e 7 produzem dor ou ardor, mas com contato breve não causam danos permanentes. Após queimaduras leves, o epitélio corneano pode tornar-se turvo em decorrência do inchaço do estroma corneano (quemose). Queimaduras leves normalmente são seguidas de rápida regeneração do epitélio corneano e recuperação completa. Em queimaduras mais graves, o epitélio da córnea e da conjuntiva torna-se opaco e necrosado e pode se desintegrar ao longo de alguns dias. Em queimaduras graves, pode não haver sensação de dor porque as terminações nervosas da córnea estão destruídas.

A queimadura da córnea por ácido acontece por meio de desnaturação induzida por íons de hidrogênio e coagulação das proteínas. Conforme as proteínas das células epiteliais coagulam, glicosaminoglicanos precipitam, e as fibras do colágeno estromal encolhem. Esses eventos fazem a córnea tornar-se turva. O processo de coagulação de proteínas e contração do colágeno é protetor na medida em que forma uma barreira e reduz a penetração de mais ácido. O encolhimento do colágeno, entretanto, contrai o olho e pode levar a um perigoso aumento agudo da pressão intraocular.

Bases ou álcalis

Compostos com pH básico são ainda mais danosos aos olhos do que os ácidos fortes. Entre os compostos de relevância clínica em termos de frequência e gravidade de lesões estão a amônia ou o hidróxido de amônio, hidróxido de sódio (soda cáustica), hidróxido de potássio (potassa cáustica), hidróxido de cálcio (cal) e hidróxido de magnésio. Uma razão para que os agentes cáusticos sejam tão perigosos é sua capacidade de penetrar rapidamente nos tecidos oculares. A toxicidade dessas substâncias é uma função de seu pH, sendo mais tóxicas à medida que o valor do pH aumenta. A irrigação rápida e extensa após a exposição e remoção de partículas, caso estejam presentes, é o tratamento imediato de escolha.

Em queimaduras cáusticas podem ser observadas duas fases de lesão. A fase aguda vai do momento da exposição até uma semana depois. Dependendo da extensão da lesão, é observado dano direto da exposição na córnea, nas partes anatômicas auxiliares e, possivelmente, na íris, no corpo ciliar e no cristalino. Substâncias fortemente alcalinas atacam a membrana lipídica causando necrose, hidratação da matriz de colágeno e edema de córnea. A pressão intraocular pode aumentar. No entanto, se a queimadura envolver o corpo ciliar, a pressão intraocular pode diminuir em virtude da reduzida formação de humor aquoso. A fase aguda da lesão é normalmente seguida pelo início do reparo da córnea. O processo de reparação pode envolver neovascularização da córnea com regeneração do epitélio corneano. Em torno de 2 a 3 semanas após uma queimadura cáustica, no entanto, costuma ocorrer ulceração do estroma corneano, como resultado da infiltração de leucócitos polimorfonucleares e de fibroblastos e da liberação de enzimas proteolíticas. A ulceração do estroma cede, em geral, quando o epitélio corneano é restaurado.

Solventes orgânicos

Quando solventes orgânicos espirram nos olhos, o resultado costuma ser uma reação dolorosa imediata. Olhos que sofreram exposição a solventes devem ser rápida e abundantemente lavados com água. Solventes altamente lipofílicos podem danificar o epitélio corneano e produzir edema do estroma corneano. A maioria dos solventes orgânicos causa mínimas queimaduras químicas para a córnea. Na maioria dos casos, o epitélio corneano será reparado em alguns dias, e não haverá nenhum dano residual. A exposição aos vapores de solvente pode gerar pequenos vacúolos transparentes no epitélio corneano, podendo ser assintomática ou associada a irritação moderada e lacrimejamento.

Surfactantes

Estes compostos têm propriedades hidrofílicas em uma extremidade da molécula e propriedades lipofílicas na outra extremidade, o que ajuda a dissolver substâncias graxas em água e também a reduzir sua tensão superficial. O uso generalizado desses agentes em sabonetes, xampus, detergentes, cosméticos e produtos de consumo semelhantes facilita a ocorrência de exposição dos tecidos oculares a esses compostos. Muitos desses agentes podem ser irritantes ou prejudiciais aos olhos. Em geral, os tensoativos catiônicos tendem a ser mais irritantes e prejudiciais do que os outros tipos, e compostos aniônicos mais do que os neutros. Como esses compostos são solúveis em ambos os meios, aquoso e lipídico, penetram rapidamente na barreira aquosa-lipídica da córnea.

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: CRISTALINO

O cristalino desempenha um papel fundamental em focar a imagem visual na retina. É um corpo transparente biconvexo, envolto em uma cápsula elástica e localizado entre a pupila e o humor vítreo (Fig. 17.1). O cristalino adulto tem uma densa região interna nuclear cercada pelo córtex do cristalino. Sua alta transparência para comprimentos de onda de luz visível é uma função de sua composição química, aproximadamente dois terços de água e um terço de proteína, e da estrutura organizacional especial das proteínas lenticulares. Os nutrientes são fornecidos a partir dos fluidos aquoso e vítreo e são transportados para a substância do cristalino por meio de um sistema intercelular de junções do tipo lacuna. O cristalino é um tecido metabolicamente ativo que mantém um cuidadoso equilíbrio eletrolítico e iônico. Continua a crescer ao longo de toda a vida, com novas células acrescentadas à margem de seu epitélio conforme as células mais velhas condensam em uma região nuclear central. O crescimento extraordinário do cristalino é ilustrado pelo seu peso crescente, de cerca de 150 mg aos 20 anos, para aproximadamente 250 mg aos 80 anos de idade.

A catarata é a diminuição da transparência da lente óptica, que, em última análise, pode levar a distúrbios funcionais visuais. Pode ocorrer em qualquer idade e também pode ser congênita. Fatores de risco para o desenvolvimento da doença são o envelhecimento, o diabetes, os baixos níveis de antioxidantes, a exposição a uma variedade de fatores ambientais, incluindo exposição a radiação UV e luz visível, trauma, tabagismo e exposição a uma grande variedade de medicamentos tópicos e sistêmicos, além de a produtos químicos. Vários mecanismos de ação diferentes têm sido propostos para o desenvolvimento da catarata. A formação de agregados de alto peso molecular envolve a oxidação de grupos tiol da proteína, o que leva a uma redução da transparência do cristalino e também a deficiências no transporte e na permeabilidade da membrana.

Luz e fototoxicidade

Os agentes oxidantes mais importantes são a luz visível e a radiação UV, em especial UV-A (320 a 400 nm) e UV-B (290 a 320 nm), além de outras formas de radiação eletromagnética. A foto-oxidação induzida por luz e radiação UV provoca a geração de espécies de oxigênio reativo e dano oxidativo, que podem se acumular ao longo do tempo. A radiação de energia UV-C (100 a 290 nm) é ainda mais prejudicial. Ao nível do mar, a atmosfera filtra praticamente toda a radiação UV-C e quase toda a UV-B proveniente da radiação solar. A córnea absorve cerca de 45% da luz com comprimentos de onda inferiores a 280 nm e apenas cerca de 12% da radiação entre 320 e 400 nm. O cristalino absorve muito da luz entre 300 e 400 nm e transmite para a retina radiações $\geq$ 400 nm. A absorção da energia da luz no cristalino provoca uma variedade de fotorreações, incluindo a geração de fluoróforos e pigmentos que levam à coloração amarelo-pardacenta do cristalino. A exposição à radiação infravermelha, como ocorre com os sopradores de vidro, ou à radiação de micro-ondas é suficiente para produzir catarata, em decorrência do aquecimento direto dos tecidos oculares.

Medicamentos e outros xenobióticos podem mediar a toxicidade fotoinduzida na córnea, no cristalino ou na retina. Isso ocorre quando a estrutura química permite a absorção de energia da luz e a subsequente geração de intermediários ativados, radicais livres e espécies de oxigênio reativo. A propensão de xenobióticos para causar reações fototóxicas pode ser prevista utilizando-se procedimentos *in vitro* e fotofísicos.

Corticosteroides

Há dois mecanismos propostos pelos quais o tratamento sistêmico com corticosteroides pode causar catarata. Tais agentes alteram o balanço eletrolítico do epitélio do cristalino, o que perturba a estrutura normal das células epiteliais, causando o aparecimento de lacunas entre as bordas laterais do epitélio celular. Outra teoria é a de que as moléculas de corticosteroides reagem com proteínas da lente cristalina, produzindo aductos de corticosteroide-cristalino que seriam complexos de espalhamento de luz.

Naftaleno

A exposição acidental a naftaleno resulta em catarata cortical e degeneração da retina. O metabólito 1,2-dihidro-1,2-dihidroxinaftaleno (naftaleno dihidrodiol) é o agente de indução de catarata. Estudos subsequentes mostraram que a enzima aldose redutase no cristalino de ratos é responsável pela formação de naftaleno dihidrodiol e que o tratamento com inibidores dessa enzima previne a catarata induzida por naftaleno.

Fenotiazinas

Pacientes esquizofrênicos que recebem medicamentos fenotiazínicos desenvolvem depósitos pigmentados em seus olhos e em sua pele. Esses agentes se combinam com a melanina para formar um produto fotossensível que reage com a luz solar, causando a formação de depósitos no cristalino e na córnea. A quantidade de pigmentação é proporcional à dose do medicamento, sendo a dose anual a forma mais preditiva. Evidências epidemiológicas mais recentes demonstram um aumento dose-dependente do risco de catarata com o uso dos fenotiazínicos não antipsicóticos.

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: RETINA

A retina de mamíferos adultos contém 9 camadas distintas além do EPR, 10 grandes tipos de neurônios e 3 células com funções gliais (Fig. 17.1). As nove camadas da retina neural são a camada de fibras nervosas (CFN), CCG, CPI, CNI, CPE, CNE, SIB e SIC, SEB e SEC. O EPR é uma única camada de células epiteliais cuboides que fica na membrana de Bruch adjacente ao coroide vascular. Entre os segmentos EPR e o fotorreceptor periférico encontra-se o espaço subretiniano, que é semelhante aos ventrículos cerebrais. Os principais tipos de neurônios são os fotorreceptores bastonetes (B) e cones (C), (despolarizantes) NO-bastonete e NO-cone CB, (hiperpolarizantes) OFF-cone CB, células horizontais (CH), numerosos subtipos de células amácrinas (CA), célula interplexiforme (CIP) e células ganglionares da retina. As três células com funções gliais são a CM, os astrócitos fibrosos e a microglia. Os somas de CMs estão no CNI. O ponto final dos CMs na retina proximal ou interna junto com a lâmina basal forma a membrana de limitação interna (MLI) da retina, que é semelhante à superfície pial do cérebro. Na retina distal, a terminação CM junta-se aos fotorreceptores e à zônula de aderência para formar a membrana limitante externa (MLE), que está localizada entre o CNE e SIB/SIC.

A retina de mamíferos é altamente vulnerável a dano estrutural e/ou funcional induzido por xenobiótico devido (1) à presença de um coriocapilar fenestrado que abastece a retina distal ou exterior, bem como uma porção da retina interna; (2) à elevada taxa de metabolismo oxidativo mitocondrial, especialmente nos fotorreceptores; (3) à alta taxa de substituição dos bastonetes e cones do segmento externo; (4) à alta suscetibilidade de degeneração dos bastonetes e cones devido a distrofias hereditárias de retina, bem como a síndromes associadas e distúrbios metabólicos; (5) à presença de sinapses especializadas em fita (*synapses ribbon*) e locais de contato; (6) à presença de numerosos neurotransmissores e sistemas neuromoduladores, incluindo sistemas glutamatérgico, GABAérgico e glicinérgico; (7) à presença de numerosas junções altamente especializadas usadas no processo de sinalização de informação; (8) à presença de melanina na coroide e no EPR e também na íris e na pupila; (9) à elevada taxa de fluxo sanguíneo da coroide, chegando a ser 10 vezes superior à da massa cinzenta do cérebro; e (10) à ação tóxica aditiva ou sinergística de certos xenobióticos com luz ultravioleta e visível.

Cada uma das camadas da retina pode sofrer efeitos tóxicos específicos e/ou gerais. Essas alterações e deficiências incluem, mas não estão limitadas a, deficiência de campo visual, de visão escotópica, como cegueira noturna e aumento no limiar para adaptação ao escuro, deficiência mediada por cone (fotópico), como diminuição na percepção das cores, na acuidade visual, edema macular e geral na retina, hemorragias na retina e vasoconstrição, e mudanças na pigmentação.

Retinotoxicidade de substâncias terapêuticas administradas sistemicamente

Quimioterapias para câncer A toxicidade ocular é um efeito colateral comum da quimioterapia para câncer, resultando em visão turva, diplopia, diminuição da visão de cores e da acuidade visual, neurite óptica/retrobulbar, cegueira cortical transitória e desmielinação dos nervos ópticos. Se a toxicidade não for detectada em uma fase precoce, as complicações oculares são frequentemente irreversíveis mesmo após a interrupção da quimioterapia.

Cloroquina e hidroxicloroquina A cloroquina e a hidroxicloroquina podem causar perda irreversível da função da retina. A cloroquina, seu principal produto de biotransformação desetil cloroquina e a hidroxicloroquina têm elevada afinidade pela melanina, resultando em acúmulo dessas substâncias na coroide e no EPR, no corpo ciliar e na íris durante e em seguida à administração dessas substâncias. A exposição prolongada da retina a essas substâncias, especialmente à cloroquina, pode levar a uma retinopatia irreversível. Doses de hidroxicloroquina inferiores a 400 mg por dia produzem pouca ou nenhuma retinopatia mesmo após tratamento prolongado.

Os achados clínicos decorrentes de retinopatia por cloroquina podem ser divididos em precoces e tardios. As primeiras alterações incluem (1) a patognomônica "retina do olho de touro", vista como uma área escura e pigmentada envolvendo a mácula, circundada por um anel pálido de despigmentação, que, por sua vez, é circundado por outro anel de pigmentação; (2) EOG diminuído; (3) possível pigmentação granular na retina periférica; e (4) queixas como visão turva e problemas para discernir letras ou palavras. Os achados da fase final, que podem ocorrer durante ou após ter cessado a exposição ao xenobiótico, incluem (1) escotoma progressivo, (2) constrição dos campos periféricos começando no quadrante temporal superior, (3) estreitamento da artéria da retina, (4) cegueira para cores noturnas, (5) ausência de um padrão típico de pigmentos da retina e (6) EOGs e ERGs muito anormais. Esses sintomas da fase final são irreversíveis.

Digoxina e digitoxina Os glicosídeos cardíacos digoxina e digitoxina induzem alterações no sistema visual, como diminuição da visão, escotomas piscantes e alteração da visão de cores. Os fotorreceptores são os alvos principais desses glicosídeos cardíacos. A retina tem o maior número de Na^+, K^+-ATPase dentre todos os tecidos oculares, as quais são fortemente inibidas por digoxina e digitoxina.

Indometacina A administração crônica de 50 a 200 mg de indometacina por dia durante 1 a 2 anos produz opacidades corneanas, discreta dispersão do pigmento do EPR perifoveal, despigmentação paramacular, diminuição da acuidade visual, alteração de campos visuais, aumento do limiar para adaptação ao escuro, deficiência das cores azul-amarelo e diminuição de amplitude nos ERG e EOG. Foi relatada diminuição de amplitude das ondas a e b no ERG com maiores mudanças observadas em condições de baixa luminosidade do que em condições de luz. Com a interrupção do tratamento com o fármaco, as formas de onda ERG e as mudanças na visão de cor retornam praticamente ao normal, embora as alterações pigmentares sejam irreversíveis. O mecanismo de retinotoxicidade é desconhecido.

Tamoxifeno A terapia de longo prazo com altas doses do medicamento (180 a 240 mg por dia durante 2 anos) produz ampla degeneração axonal nas áreas macular e perimacular. Os sintomas clínicos incluem diminuição permanente da acuidade visual

e campos visuais anormais, uma vez que a degeneração axonal é irreversível. A terapia de longo prazo com doses baixas de tamoxifeno (20 mg/dia) pode resultar em pequeno aumento na incidência de queratopatia, com alterações mínimas na função visual. Após a cessação da terapia com baixas doses da substância, a maioria das queratopatias e alterações retinianas é reversível, exceto a opacidade corneal e a retinopatia.

Retinotoxicidade de neurotoxicantes conhecidos

Chumbo inorgânico A intoxicação por chumbo inorgânico (média de chumbo no sangue [BPb] $\geq$ 80 μg/dL) em humanos produz ambliopia, cegueira, neurite óptica ou atrofia, escotoma central e periférico, paralisia dos músculos do olho e diminuição da função visual. A exposição ao chumbo em níveis de moderado a elevado produz deficiências escotópicas e temporais no sistema visual em trabalhadores de fábrica profissionalmente expostos e em macacos e ratos de experimentos. Esse nível de exposição ao chumbo produz deficiências irreversíveis na retina de animais de experimentação. A exposição ocupacional ao agente produz alterações na retina dependentes da concentração e do tempo de exposição, de forma que níveis elevados de chumbo afetam direta e adversamente a retina e o nervo óptico, enquanto baixos níveis afetam preferencialmente os bastonetes fotorreceptores e as vias dos bastonetes. Além disso, essas alterações da retina e oculomotoras foram, na maioria dos casos, correlacionadas com níveis de chumbo no sangue e ocorreram na ausência de alterações oftalmológicas visíveis, sintomas do SNC e desempenho anormal nos resultados dos testes. Assim, essas medidas de função visual temporal podem estar entre as mais sensíveis para a detecção precoce dos efeitos neurotóxicos do chumbo inorgânico.

Metanol O ácido fórmico é o metabólito tóxico do metanol que medeia a acidose metabólica e a toxicidade na retina e no nervo óptico observada em seres humanos, macacos e ratos com capacidade diminuída para o metabolismo de folatos. Humanos e primatas são altamente sensíveis à neurotoxicidade induzida por metanol em virtude de suas capacidades limitadas para oxidar ácido fórmico. A toxicidade ocorre em várias etapas. Inicialmente, ocorre uma depressão leve do SNC, seguida por um período de latência assintomática de 12 a 24 horas, seguida por uma síndrome que consiste em acidemia fórmica, acidose metabólica não compensada, toxicidade visual e ocular, coma e, possivelmente, morte. A intoxicação aguda por metanol resulta em alterações estruturais profundas e permanentes da retina e do nervo óptico e deficiências visuais que vão desde visão turva e diminuição da acuidade visual e da sensibilidade à luz até cegueira. O formiato é diretamente tóxico para a função da célula glial de Müller, bem como para os fotorreceptores bastonete e cone. O mecanismo de toxicidade do formiato aparentemente envolve uma interrupção na fosforilação oxidativa nos fotorreceptores, nas células gliais de Müller e no nervo óptico.

Solventes orgânicos Os solventes orgânicos produzem alterações estruturais nos bastonetes e nos cones, bem como alterações funcionais, como deficiência da visão colorida, diminuição da sensibilidade ao contraste e desempenho visual-motor alterado. Trabalhadores expostos a solventes orgânicos, tais como tricloroetileno, álcoois, xileno, tolueno, *n*-hexano, estireno, uma mistura destes e outros, sofrem perda da relação dose-resposta em visão de cores e diminuição da função de sensibilidade ao contraste. Efeitos adversos normalmente ocorrem apenas em concentrações acima dos limites de exposição ocupacional.

Organofosforados Vários organofosforados produzem retinotoxicidade e dano ocular crônico. A evidência de toxicidade retinal induzida por organofosforado é mais acentuada para fention (dimetil-3-metil-4-metiltiofenilfosforotionato).

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: NERVO E TRATO ÓPTICOS

O nervo óptico consiste principalmente de axônios das células ganglionares da retina (CGR) que levam as informações visuais da retina para vários destinos anatomicamente distintos no SNC. Distúrbios do nervo óptico podem ser denominados de *neurite óptica*, *neuropatia óptica* ou *atrofia do nervo óptico*, referindo-se, respectivamente, a inflamação, danos ou degeneração do nervo óptico. A *neurite retrobulbar* refere-se a inflamação ou envolvimento orbital do nervo óptico na porção posterior do globo ocular. Entre os sintomas de doença do nervo óptico têm-se acuidade visual, sensibilidade ao contraste e visão colorida reduzidas. Efeitos tóxicos observados no nervo óptico podem ser provenientes de danos às fibras do nervo óptico propriamente dito ou às somas das CGR que fornecem axônios para o nervo óptico. Uma série de distúrbios tóxicos e nutricionais pode afetá-lo adversamente. A deficiência de tiamina, vitamina B_{12} ou zinco resulta em alterações degenerativas nas fibras do nervo óptico. Uma condição denominada *ambliopia tabaco-álcool* ou simplesmente *ambliopia tóxica* é observada em usuários habituais dessas substâncias e está associada à deficiência nutricional.

Dissulfeto de carbono

O dissulfeto de carbono (CS_2) causa danos ao sistema nervoso central e ao periférico. No sistema visual, os trabalhadores a ele expostos experimentam perda de função visual acompanhada por lesões na vasculatura da retina. Foram relatados escotoma central, sensibilidade visual deprimida no campo visual periférico, atrofia óptica, distúrbios pupilares, visão borrada e distúrbios na percepção de cores. A patologia produzida por CS_2 na retina e no nervo óptico é provavelmente, uma ação neuropatológica direta, e não o resultado indireto de vasculopatia.

Etambutol

O isômero dextro do etambutol produz alterações dose-relacionadas no sistema visual, tais como discromatopsias azul-amarelo e vermelho-verde, diminuição da sensibilidade ao contraste, acuidade visual reduzida e perda de campo visual. Os primeiros sintomas visuais são diminuição da sensibilidade ao contraste e visão de cores. A visão prejudicada das cores vermelho-verde é a queixa mais observada e relatada. Os sintomas estão associados principalmente com uma das duas formas de neurite retrobulbar (p. ex., neuropatia óptica). A forma mais comum, vista em quase

todos os casos, envolve as fibras do nervo óptico central e resulta, em geral, em escotoma central ou paracentral no campo visual e está associada com visão prejudicada nas cores vermelho-verde e diminuição da acuidade visual, enquanto a segunda forma envolve as fibras periféricas do nervo óptico e costuma resultar em escotoma periférico e perda do campo visual.

SÍTIOS-ALVO E MECANISMOS DE AÇÃO: SISTEMA VISUAL CENTRAL

Muitas áreas do córtex cerebral estão envolvidas na percepção da informação visual. O córtex visual primário recebe as projeções primárias de informação visual do tálamo (NGL) e também do colículo superior. Neurônios do tálamo projetam-se para o córtex visual mantendo a representação topográfica da origem do campo receptivo na retina.

Chumbo

Além dos efeitos bem documentados do chumbo na retina, a exposição ao elemento durante a idade adulta ou o desenvolvimento perinatal produz deficiências estruturais, bioquímicas e funcionais no córtex visual de seres humanos, primatas e ratos. Estudos quantitativos morfométricos em macacos expostos a níveis elevados de chumbo desde o nascimento ou a primeira infância à idade de 6 anos revelaram diminuição no córtex visual (áreas V1 e V2), na densidade de volume celular e no número de ramificações entre os neurônios piramidais. Essas alterações poderiam contribuir parcialmente para as alterações nas medidas de amplitude e latência dos potenciais evocados e para o padrão reverso de potencial evocado em crianças, trabalhadores, macacos e ratos expostos ao chumbo, assim como para as alterações em tarefas de avaliação da função visual em crianças expostas ao elemento.

Metilmercúrio

Deficiências visuais são uma característica proeminente de intoxicação de humanos adultos por metilmercúrio. Indivíduos intoxicados pelo elemento experimentam uma impressionante e progressiva constrição do campo visual (escotoma periférico). O estreitamento da visão global dá a impressão de olhar através de um túnel longo, daí o termo *visão de túnel*. O dano é mais grave nas regiões do córtex visual primário servindo o campo visual periférico, com relativa preservação das áreas corticais que representam a visão central. Indivíduos intoxicados por metilmercúrio também experimentam visão noturna pobre, que também é atribuída a perdas no campo visual periférico.

REFERÊNCIAS

Bartlett JD, Jaanus SD: *Clinical Ocular Pharmacology*, 5th ed. Boston: Butterworth-Heinemann, 2008.

Fraunfelder FT, Fraunfelder FW, Chambers WA: *Clinical Ocular Toxicology: Drugs, Chemicals, and Herbs*. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2008.

Smolin G, Foster CS, Azar DT, Dohlman CH: *Smolin and Thoft's The Cornea: Scientific Foundations and Clinical Practice*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005.

QUESTÕES

1. Em qual dos seguintes locais não se encontra melanina?
   a. Íris
   b. Corpo ciliar
   c. Epitélio pigmentar da retina (EPR)
   d. Trato uveal
   e. Esclera

2. A exposição sistêmica a xenobióticos atinge preferencialmente qual dos seguintes locais da retina?
   a. EPR e camada de células ganglionares
   b. Nervo óptico e camada plexiforme interior
   c. EPR e fotorreceptores
   d. Fotorreceptores e camada de células ganglionares
   e. Camada plexiforme interior e EPR

3. Qual das seguintes estruturas não faz parte do fundo do olho?
   a. Retina
   b. Cristalino
   c. Coroide
   d. Esclera
   e. Nervo óptico

4. Xenobióticos em sangue sistêmico têm melhor acesso a qual dos seguintes alvos devido à presença de junções endoteliais frouxas nesse local?
   a. Retina coroidal
   b. Retina interior
   c. Nervo óptico
   d. Íris
   e. Corpo ciliar

5. Todas as seguintes afirmações referentes a irritação ocular e toxicidade são verdadeiras, com EXCEÇÃO de:
   a. O teste Draize envolve a instilação de um líquido ou sólido potencialmente tóxico no olho.
   b. O efeito de irritação no teste Draize é pontuado em uma escala ponderada para a córnea, a íris e a conjuntiva.
   c. O teste Draize geralmente usa um olho para o teste e o outro como controle.
   d. O teste Draize tem forte valor preditivo em seres humanos.
   e. A córnea é avaliada quanto a opacidade e área de envolvimento no teste Draize.

6. Qual das seguintes afirmações em relação à deficiência de visão de cores é FALSA?
   a. A herança de deficiência de cor azul-amarelo é comum.
   b. A deficiência bilateral no córtex visual pode levar à cegueira de cor.
   c. Distúrbios da retina externa produzem deficiência de cor azul-amarelo.
   d. A exposição a xenobióticos resulta, em geral, em deficiência de cor azul-amarelo.
   e. Distúrbios do nervo óptico produzem deficiências de cor vermelho-verde.

7. Com qual dos seguintes valores de pH uma substância seria mais prejudicial para a córnea?
   a. 1,0
   b. 3,0
   c. 7,0
   d. 10,0
   e. 12,0

8. Qual das seguintes afirmações sobre o cristalino é FALSA?
   a. A exposição à radiação UV é um fator de risco ambiental comum para o desenvolvimento de catarata.
   b Cataratas são opacidades do cristalino que podem ocorrer em qualquer idade.
   c. O cristalino continua a crescer ao longo da vida.
   d. Naftaleno e solventes orgânicos podem causar catarata.
   e. O tratamento tópico com corticosteroides pode causar catarata.

9. Qual dos seguintes itens NÃO é uma razão pela qual a retina é altamente vulnerável a danos induzidos por uma substância tóxica?
   a. Presença de vários sistemas neurotransmissores.
   b. Presença de melanina no EPR.
   c. Elevada taxa de fluxo sanguíneo coroidal.
   d. Alta taxa de metabolismo oxidativo mitocondrial.
   e. Falta de junções.

10. A deficiência de qual das seguintes vitaminas pode resultar em degeneração das fibras do nervo óptico?
    a. Vitamina A
    b. Vitamina B_3
    c. Vitamina C
    d. Vitamina B_{12}
    e. Vitamina E

CAPÍTULO

18

Respostas Tóxicas do Coração e do Sistema Vascular

Y. James Kang

INTRODUÇÃO

VISÃO GERAL DO CORAÇÃO

Revisão da estrutura cardíaca

Eletrofisiologia cardíaca

Condução elétrica no coração

Acoplamento excitação-contração

Eletrocardiograma

Débito cardíaco

RESPOSTAS TÓXICAS CARDÍACAS

Arritmia cardíaca

Doença isquêmica do coração

Hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca

Toxicidade cardíaca aguda e crônica

Cardiomiopatias

Biomarcadores de toxicidade cardíaca

MECANISMOS GERAIS DE CARDIOTOXICIDADE

Interferência na homeostase de íons

Inibição da Na^+, K^+-ATPase

Bloqueio dos canais de Na^+

Bloqueio dos canais de K^+

Bloqueio dos canais de Ca^{2+}

Alteração do fluxo sanguíneo coronariano

Estresse oxidativo

Disfunção organelar

Lesão sarcolemal, disfunção do RS e sobrecarga de Ca^{2+}

Lesão mitocondrial

Apoptose e oncose

CARDIOTOXICANTES

Agentes farmacêuticos

Álcool e cardiomiopatia alcoólica

Glicosídeos cardíacos

Simpatomiméticos

Antraciclinas e outros agentes antineoplásicos

Fármacos de ação central

Anestésicos locais

Anti-histamínicos

Substâncias de ocorrência natural

Esteroides e hormônios relacionados

Citocinas

Toxinas animais e vegetais

Agentes industriais

Solventes

Alcanos halogenados

VISÃO GERAL DA FISIOLOGIA VASCULAR

DISTÚRBIOS DE ESTRUTURA E FUNÇÃO VASCULAR

MECANISMOS DE TOXICIDADE VASCULAR

CLASSIFICAÇÃO DOS AGENTES VASCULOTÓXICOS

Agentes farmacêuticos

Nicotina

Cocaína

Contraceptivos orais

Produtos naturais

Endotoxinas bacterianas

Vitamina D

Agentes industriais

Metais pesados

Hidrocarbonetos aromáticos

Monóxido de carbono

PONTOS-CHAVE

- Distúrbios típicos quimicamente induzidos na função cardíaca consistem em efeitos na frequência cardíaca (cronotrópicos), contratilidade (inotrópicos), condutividade (dromotrópicos) e/ou excitabilidade (batmotrópicos).
- Qualquer xenobiótico que interrompa a movimentação de íons ou a homeostase pode induzir uma reação cardiotóxica, composta principalmente por distúrbios na frequência cardíaca.
- Todos os toxicantes absorvidos para o sistema circulatório entram em contato com as células vasculares antes de alcançar outros locais do corpo.
- Mecanismos comuns de toxicidade vascular incluem: (1) alterações em estrutura e função de membranas; (2) estresse oxidativo; (3) bioativação de pró-toxicantes vasoespecíficos; e (4) acumulação preferencial do toxicante ativo nas células vasculares.

INTRODUÇÃO

O sistema cardiovascular é composto por dois componentes principais: o miocárdio e uma vasta rede de vasos, constituídos de artérias, capilares e veias. Ambos os componentes têm a função de suprir os tecidos e as células do corpo com os nutrientes apropriados, gases respiratórios, hormônios e metabólitos e remover os produtos residuais do metabolismo tecidual e celular, bem como corpos estranhos, como microrganismos invasores. Além disso, o sistema cardiovascular é responsável não só pela manutenção da homeostase do corpo, mas também pela regulação fundamental da temperatura corporal e pela manutenção do pH celular e tecidual.

VISÃO GERAL DO CORAÇÃO

A Figura 18.1 ilustra a anatomia básica do coração. O principal objetivo do coração é bombear o sangue para os pulmões e as artérias sistêmicas para fornecer oxigênio e nutrientes a todos os tecidos do corpo.

Revisão da estrutura cardíaca

A organização estrutural do tecido do miocárdio é mostrada na Figura 18.2. Sua principal unidade é a célula contrátil do músculo cardíaco, ou miócitos cardíacos. Miócitos cardíacos são compostos por elementos contráteis conhecidos como miofibrilas, que consistem em numerosos miofilamentos grossos e finos. Os filamentos grossos são montagens especiais da proteína miosina, enquanto os filamentos finos consistem principalmente na proteína actina. Miócitos cardíacos são unidos em suas extremidades por discos intercalares. Dentro desses discos há firmes junções comunicantes que facilitam a propagação do potencial de ação e a comunicação intercelular.

O coração contém miócitos cardíacos, que contribuem em especial para a massa cardíaca. Fibroblastos cardíacos, células vasculares, células de Purkinje e outras células do tecido conjun-

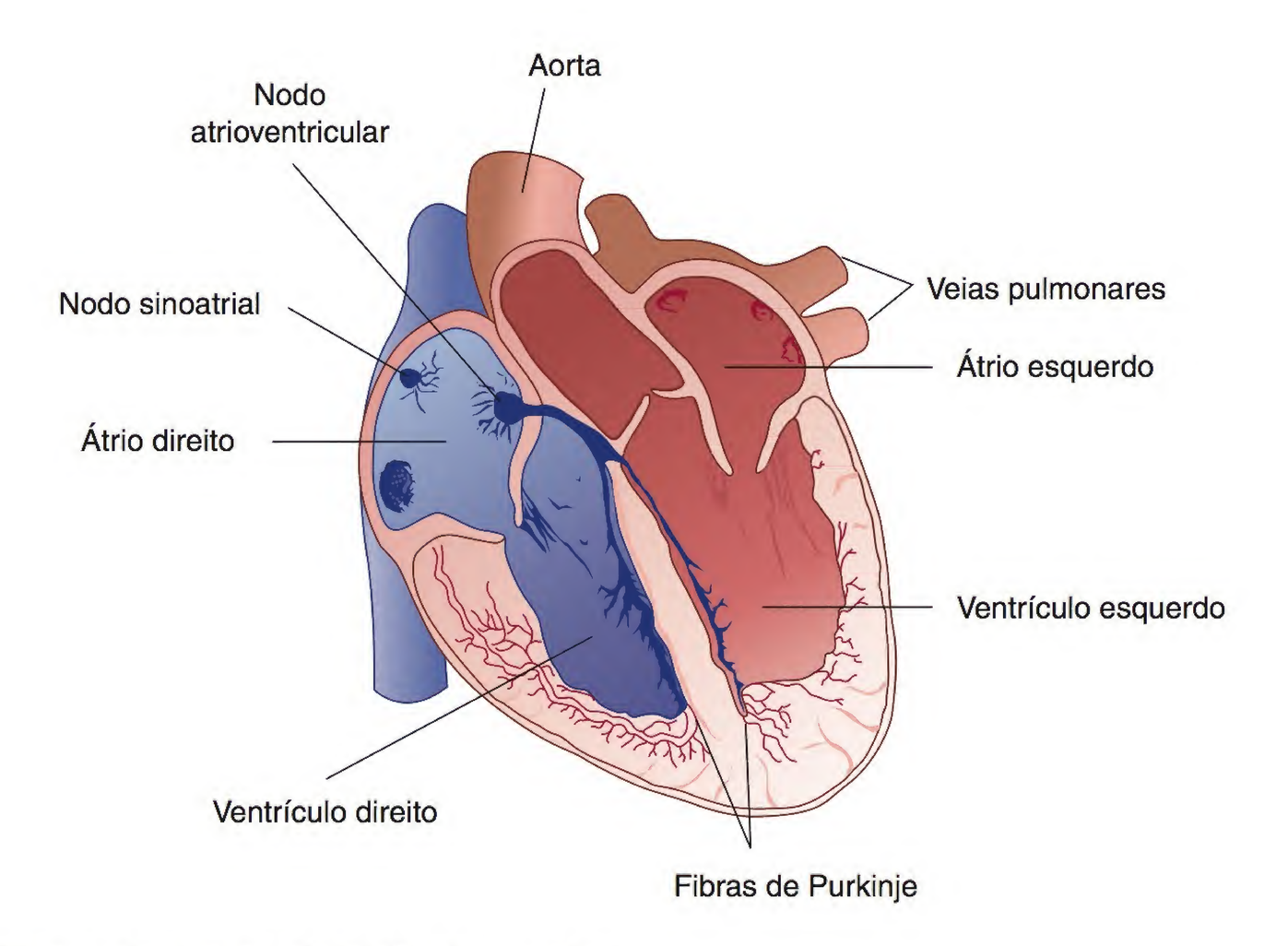


FIGURA 18.1 Diagrama ilustrando a anatomia básica do coração.

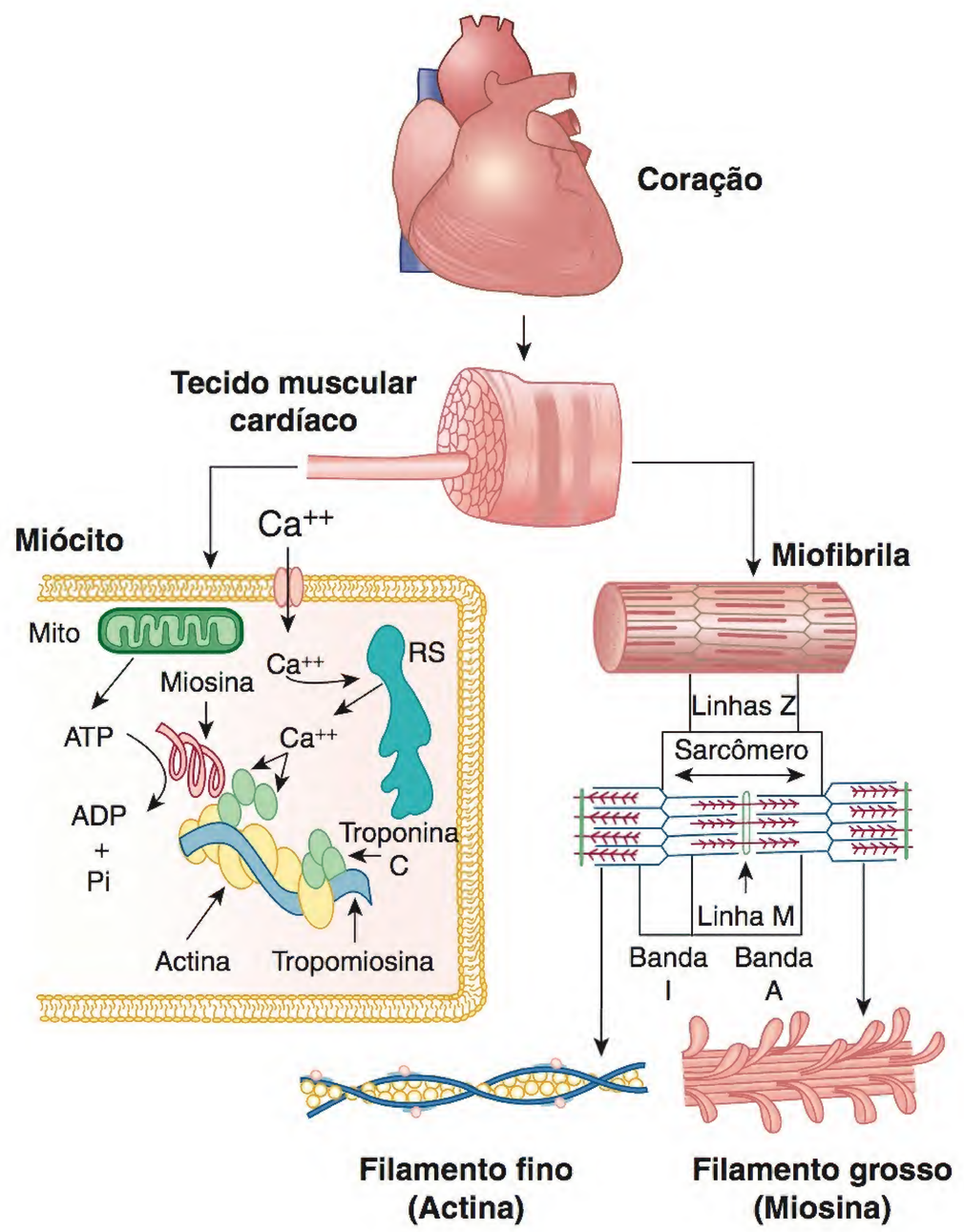


FIGURA 18.2 Organização estrutural do tecido muscular cardíaco.

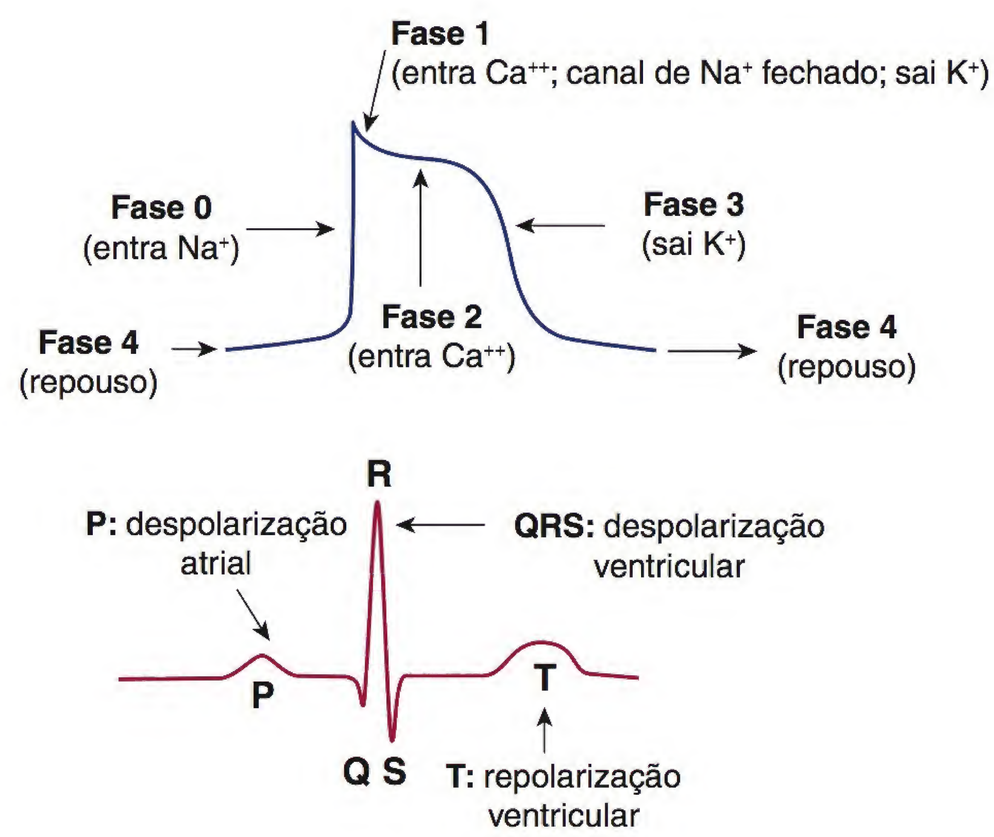


FIGURA 18.3 Potencial de ação característico e eletrocardiograma (ECG).

tivo compõem a maioria das células no coração. A hipertrofia dos miócitos cardíacos ainda é uma característica do remodelamento cardíaco após lesões do miocárdio. Fibroblastos cardíacos promovem a fibrose e a cicatrização do tecido cardíaco lesionado. O coração é vulnerável a lesões devido à limitada capacidade proliferativa dos miócitos cardíacos, à promoção da proliferação de fibroblastos cardíacos e ao remodelamento cardíaco após a lesão.

Eletrofisiologia cardíaca

A aparência característica do potencial de ação cardíaco demonstra como correntes de íons resultam em mudanças no potencial de membrana (Fig. 18.3). Em uma célula em repouso, a fase 4 refere-se à densidade da carga elétrica em ambos os lados do sarcolema, ou potencial de membrana diastólico (internamente negativa em relação ao exterior da célula). Quando um potencial de ação é iniciado, os canais de sódio (Na^+) se abrem, e o rápido influxo de Na^+ dá origem ao aumento do potencial de ação (fase 0). O fechamento dos canais de Na^+ e a ativação dos canais de potássio (K^+), com fluxo para fora, iniciam a fase 1. Como a corrente de Na^+ é dissipada, o Ca^{2+} continua a entrar na célula, dando origem ao aparecimento do platô característico da fase 2. A repolarização final (fase 3) resulta do fechamento dos canais de Ca^{2+} e do efluxo de K^+ para a célula.

Condução elétrica no coração O ciclo cardíaco começa nas células marca-passo, que espontaneamente despolarizam e passam uma corrente elétrica despolarizante para as células vizinhas. As células do marca-passo não se contraem. A despolarização espontânea pode ser encontrada no nodo sinoatrial (SA), no nodo atrioventricular (AV), no feixe de His (pacote AV) e nas fibras de Purkinje. Em condições fisiológicas, as células nodais SA definem o ritmo do coração. Se o nó SA é danificado ou inibido, as células despolarizantes próximas mais rápidas (nodo AV) assumem a atividade marca-passo. No entanto, a função cardíaca normal fica comprometida como resultado de taxas de despolarização espontâneas mais lentas.

Normalmente, o ciclo cardíaco começa com a despolarização espontânea das células do nodo SA. O impulso elétrico se propaga pelo músculo atrial e converge para o nodo AV. O denso tecido fibroso do nodo AV faz os impulsos elétricos ficarem mais lentos. Essa transferência tardia da corrente entre os átrios e ventrículos permite que os átrios completem sua contração antes da despolarização dos ventrículos. O impulso do nodo AV é, então, enviado para baixo do feixe de His, do ramo de feixes e da rede de Purkinje, causando despolarização e contração dos ventrículos.

A atividade elétrica cardíaca é regulada pelo sistema nervoso autônomo (SNA). A noradrenalina e os simpatomiméticos similares estimulam o aumento da frequência cardíaca e da contratilidade do miocárdio. O grande efeito dos parassimpatomiméticos é diminuir a taxa de despolarização, com apenas uma ligeira diminuição da contratilidade ventricular.

Acoplamento excitação-contração Para a contração ocorrer, tanto o ATP como o Ca^{2+} devem estar prontamente disponíveis. A contração mecânica dos miócitos cardíacos ocorre quando o Ca^{2+} se liga à proteína troponina C e com tropomiosina. Na sequência de uma mudança conformacional induzida por Ca^{2+} na troponina C e na tropomiosina, o ATP é hidrolisado, induzindo uma mudança conformacional na miosina e, posteriormente, permitindo que a miosina se ligue à actina, produzindo o "ciclo

das pontes cruzadas" e a contração. O relaxamento dos miócitos cardíacos exige reduções do *pool* de Ca^{2+} disponível para interação com a troponina C.

Eletrocardiograma O eletrocardiograma (ECG) registra as correntes elétricas geradas durante a despolarização e a repolarização. No ECG mostrado na Figura 18.3, desvios (ou ondas) são registrados e correspondem à despolarização atrial (onda P), à despolarização ventricular (complexo QRS) e à repolarização ventricular (onda T); porém, a repolarização atrial normalmente não é observada no ECG, pois é obscurecida pelo grande complexo QRS. Intervalos úteis perceptíveis no ECG incluem: o intervalo PR, que corresponde principalmente à condução pelo nodo AV; a duração do QRS, correspondente à despolarização ventricular; o intervalo ST, correspondente à repolarização ventricular; e o intervalo QT, correspondente à despolarização e à repolarização ventricular.

Débito cardíaco O principal indicador da função cardíaca é o *débito cardíaco*, que é o volume de sangue bombeado pelo ventrículo por minuto. O débito cardíaco é dependente da frequência cardíaca e do volume sistólico (quantidade de sangue ejetada pelos ventrículos durante a sístole). O débito cardíaco normal em repouso é de aproximadamente 5 L/min em um ser humano adulto médio, e esse valor pode aumentar de três a quatro vezes durante o exercício extenuante. Substâncias tóxicas podem alterar o débito cardíaco por meio de vários mecanismos com efeitos no coração, em vasos e/ou no sistema nervoso. Arritmia cardíaca, hipertrofia e insuficiência cardíaca refletem alterações funcionais do miocárdio resultantes de toxicidade cardíaca tanto aguda como crônica.

RESPOSTAS TÓXICAS CARDÍACAS

Arritmia cardíaca

Distúrbios típicos quimicamente induzidos na função cardíaca consistem em efeitos sobre a frequência cardíaca (cronotrópicos), a contratilidade (inotrópicos), a condutividade (dromotrópicos), e/ou a excitabilidade (batmotrópicos). A frequência normal do coração humano em repouso é de aproximadamente 70 batimentos/min. A frequência cardíaca acelerada em repouso (ou seja, acima de 120 batimentos/min) é conhecida como taquicardia, enquanto uma frequência cardíaca lenta (ou seja, abaixo de 60 batimentos/min) é conhecida como bradicardia. Qualquer variação no ritmo normal é chamada de *arritmia*, e arritmias, com frequência, são complicações secundárias a outros distúrbios em curso na função cardíaca.

Arritmias supraventriculares podem ser resultado de defeitos em circuitos de reentrada nodal AV, desvios anatômicos ou lesão muscular atrial. Arritmias ventriculares são quase sempre sintomáticas e provocam perda de consciência em poucos segundos e até mesmo à morte se não forem resolvidas ou tratadas. Podem surgir de lesões musculares secundárias a isquemia, infarto e subsequentes cicatrizes e fibrose ou por hipertrofia ventricular. O bloqueio cardíaco se deve a deficiências no sistema de condução cardíaco. Em geral, os átrios mantêm taxas de batimento regulares, mas às vezes os ventrículos falham em despolarizar.

Doença isquêmica do coração

A doença isquêmica do coração (DIC) pode ser produzida por várias condições patológicas e/ou xenobióticos que perturbam o equilíbrio da perfusão miocárdica e da demanda de nutrientes e oxigênio do miocárdio. Uma das principais causas de DIC é a aterosclerose coronariana, que resulta em obstrução arterial. A isquemia prolongada pode provocar infarto do miocárdio ou morte das células do miocárdio devido à falta de fluxo sanguíneo. Áreas do coração que estão permanentemente danificadas pelo infarto são substituídas por tecido cicatricial. O processo de *remodelação cardíaca* inclui a perda inicial de miócitos, subsequente ativação de células do tecido conjuntivo e produção de cicatriz, hipertrofia dos miócitos remanescentes, alteração da geometria cardíaca e mudanças na microcirculação dentro do coração.

Hipertrofia cardíaca e insuficiência cardíaca

A hipertrofia cardíaca é um componente importante para o remodelamento cardíaco após a DIC. No entanto, ela é, muitas vezes, uma resposta compensatória do coração à carga de trabalho aumentada. A hipertensão prolongada, por exemplo, contribui para a hipertrofia ventricular esquerda induzida por sobrecarga. A hipertrofia cardíaca por si só não resulta necessariamente em um distúrbio na função cardíaca. Em relação ao remodelamento seguinte à lesão cardíaca, a hipertrofia dos miócitos sobreviventes pode ser necessária para manter o débito cardíaco na manutenção da vida. Em algum ponto na evolução da DIC, no entanto, o miocárdio hipertrófico pode "descompensar" por mecanismos desconhecidos, resultando em insuficiência. Durante a insuficiência, a contratilidade ventricular e/ou complacência é reduzida de tal forma que o débito cardíaco é diminuído. A insuficiência pode apresentar-se como esquerda, direita ou em ambos os lados. Quando a insuficiência no lado esquerdo é a patologia de base, há acúmulo de sangue nos pulmões e desenvolvimento de edema pulmonar. Quando a insuficiência no lado direito é a patologia de base, há acúmulo de sangue nas extremidades, e edema localizado e persistente é encontrado na parte inferior das pernas.

Toxicidade cardíaca aguda e crônica

A toxicidade cardíaca aguda é a resposta cardíaca a uma exposição única ou a uma alta dose de agentes cardiotóxicos (Fig. 18.4). Muitas vezes, manifesta-se por arritmia cardíaca, mas a apoptose do miocárdio também está envolvida. A toxicidade cardíaca crônica é a resposta cardíaca à exposição a longo prazo a agentes químicos e, muitas vezes, manifesta-se pela hipertrofia cardíaca e transição para insuficiência cardíaca.

Cardiomiopatias

O termo *cardiomiopatia* refere-se essencialmente a qualquer estado patológico que altera a função do miocárdio. Portanto, as causas da cardiomiopatia incluem DIC (cardiomiopatia isquêmica), hipertrofia cardíaca, doenças infecciosas (p. ex., cardiomiopatia viral), cardiomiopatia induzida por drogas ou agentes químicos e causas desconhecidas (idiopática). A *cardiomiopatia dilatada* é produzida por hipertrofia cardíaca progressiva, descompensação, dilatação ventricular e disfunção sistólica, com consequente comprometimento da contratilidade. A *cardiomio-*

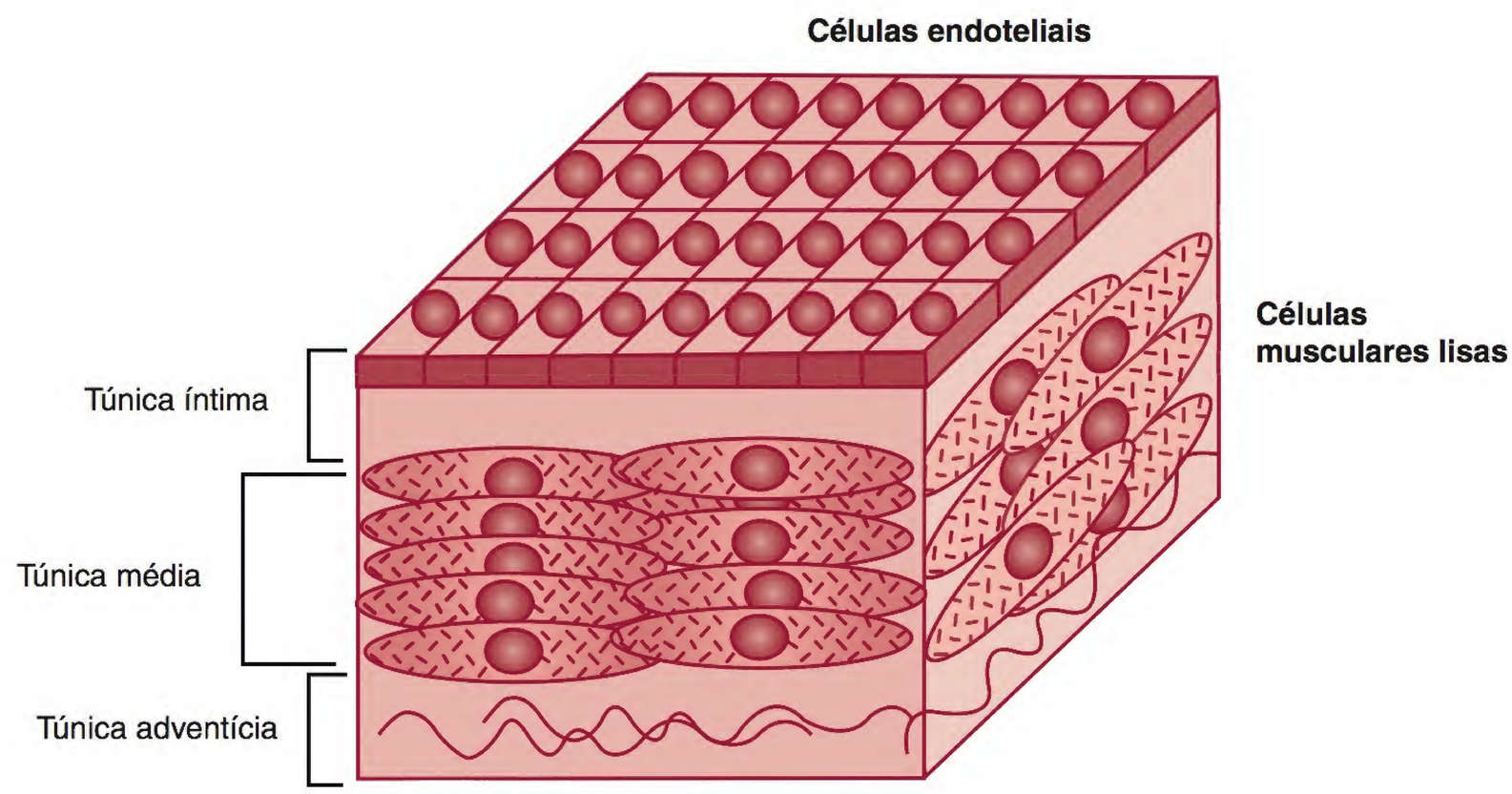


FIGURA 18.4 Insuficiência cardíaca aguda e crônica induzida pela exposição tóxica e a transição da hipertrofia cardíaca para a insuficiência cardíaca. A exposição aguda a xenobióticos pode causar arritmia cardíaca, que é frequentemente observada. Porém, se a agressão tóxica for muito grave, então a apoptose e a necrose do miocárdio tornam-se predominantes, levando a cardiomiopatia dilatada e insuficiência cardíaca. No entanto, o coração sobrevive a agressões tóxicas, muitas vezes, por meio de mecanismos adaptativos envolvendo a regulação positiva de genes de hipertrofia e hipertrofia cardíaca. A hipertrofia cardíaca aumenta o risco de prolongamento do intervalo QT e morte cardíaca súbita e também ativa mecanismos de regulação neuro-hormonal, incluindo a elevação da concentração plasmática de neurotransmissores simpáticos e angiotensinas. Esses mecanismos de compensação, por sua vez, ativam mecanismos contrarregulatórios, tais como ANP, BNP e TNF-α. A ação a longo prazo dos mecanismos de contrarregulação provoca o remodelamento do miocárdio e a transição da hipertrofia cardíaca para insuficiência cardíaca.

patia hipertrófica é produzida por hipertrofia cardíaca progressiva, com deficiência na complacência das paredes ventriculares e enchimento ventricular diastólico reduzido.

Biomarcadores de toxicidade cardíaca

Na prática clínica e na abordagem experimental, os biomarcadores são referidos como índices de lesão miocárdica, medidos a partir de amostras de sangue. Moléculas que são liberadas do miocárdio em diversas condições de lesão são facilmente detectáveis a partir de amostras de sangue. A Tabela 18.1 lista biomarcadores de toxicidade cardíaca atuais e as lesões/anormalidades que eles indicam.

MECANISMOS GERAIS DE CARDIOTOXICIDADE

Interferência na homeostase de íons

A função cardíaca é dependente de forte regulação da atividade dos canais iônicos e da homeostase de íons. Qualquer xenobiótico que interrompa o movimento de íons ou sua homeostase pode induzir uma reação cardiotóxica composta principalmente por distúrbios no ritmo cardíaco. A sobrecarga de Ca^{2+} induzida por estresse nas células do miocárdio aumenta a probabilidade de arritmia. O desequilíbrio eletrolítico exerce um efeito maior sobre um coração já comprometido.

Inibição da Na^+, K^+-ATPase A Na^+, K^+-ATPase reduz o Na^+ intracelular em troca de K^+ extracelular. A inibição da Na^+, K^+-ATPase do coração aumentará as concentrações intracelulares de Na^+ no estado de repouso. Isso, por sua vez, causará o aumento da concentração intracelular de Ca^{2+} por meio da troca Na^+/Ca^{2+}, e o Ca^{2+} intracelular elevado e os estoques de Ca^{2+}, assim, contribuem para as ações inotrópicas desses agentes.

TABELA 18.1 Biomarcadores para toxicidade cardíaca

Biomarcador	Localização do tecido	Anormalidade cardíaca proposta indicada por níveis elevados
Creatina quinase		–
CK-MM	Músculo esquelético, miocárdio	–
CK-BB CK-MB	Cérebro, rins, miocárdio	Infarto agudo do miocárdio; pico observado 18-24 h após o infarto
Mioglobina	Todos os tipos de músculo, incluindo o miocárdio	Infarto agudo do miocárdio; pico observado 1-4 h após o infarto
Peptídeo natriurético tipo B (BNP)	Miocárdio ventricular	Sobrecarga de pressão; tensão na parede ventricular; insuficiência cardíaca crônica
Proteína C-reativa (PCR)	Fígado	Inflamação sistêmica e vascular
Troponinas cardíacas	Cardiomiócitos	Lesão miocárdica irreversível (p. ex., infarto do miocárdio)

Bloqueio dos canais de Na^+ Agentes que inibem os canais de Na^+ em células cardíacas irão alterar a excitabilidade cardíaca, exigindo uma maior despolarização da membrana para a abertura de canais de Na^+. Os efeitos do bloqueio dos canais de Na^+ incluem redução da velocidade de condução, prolongando a duração do complexo QRS, diminuição da automaticidade e inibição da atividade desencadeada a partir de pós-despolarizações atrasadas ou prematuras.

Bloqueio dos canais de K^+ Muitos canais de K^+ diferentes são expressos no coração humano. O bloqueio dos canais de K^+ aumenta a duração do potencial de ação e aumenta a refratariedade (a célula submetida à repolarização é refratária à despolarização).

Bloqueio dos canais de Ca^{2+} O canal de Ca^{2+} tipo L contribui para o acoplamento excitação-contração, enquanto os canais de Ca^{2+} tipo T contribuem para o potencial do marca-passo no nodo SA. O bloqueio dos canais de Ca^{2+} no coração produz um efeito inotrópico negativo devido à redução de Ca^{2+} intracelular induzida por liberação de Ca^{2+}.

Alteração do fluxo sanguíneo coronariano

Catecolaminas, tais como a adrenalina, normalmente aumentam o fluxo sanguíneo coronariano indiretamente, por meio do aumento da liberação de vasodilatadores metabólicos e do aumento relativo da duração diastólica a frequências cardíacas mais elevadas, em que a estimulação por adrenalina de receptores β-adrenérgicos aumenta a frequência cardíaca, a contratilidade e o consumo de oxigênio pelo miocárdio. Em contraste, o efeito direto de simpatomiméticos sobre a vasculatura coronariana inclui vasoespasmo coronariano por meio da ativação de receptores α-adrenérgicos. Quando receptores β-adrenérgicos são bloqueados, ou durante condições fisiopatológicas subjacentes do coração, as ações diretas dos simpatomiméticos podem predominar, levando à vasoconstrição coronariana.

Em doenças isquêmicas, o alívio da causa da isquemia (p. ex., terapia trombolítica após o infarto agudo do miocárdio) provoca a reperfusão do miocárdio. No entanto, dependendo da duração da isquemia, uma disfunção contrátil reversível permanece de 1 a vários dias após a reperfusão, e a reperfusão do miocárdio provoca subsequente dano tecidual que pode ser reversível ou permanente, um fenômeno conhecido como lesão por isquemia-reperfusão (I/R).

Acidose intracelular, inibição da fosforilação oxidativa e depleção de ATP são consequências da isquemia miocárdica. Os mecanismos propostos para explicar a lesão por reperfusão incluem a geração de radicais tóxicos de oxigênio, sobrecarga de Ca^{2+}, mudanças no pH celular, desacoplamento da fosforilação oxidativa mitocondrial e danos físicos no sarcolema.

Estresse oxidativo

Espécies reativas de oxigênio são geradas durante a isquemia miocárdica e no momento da reperfusão. Na aterosclerose, acredita-se que a alteração oxidativa da lipoproteína de baixa densidade esteja envolvida na formação de placas ateroscleróticas. A Figura 18.5 resume os efeitos adversos dos radicais reativos de oxigênio gerados durante a isquemia e a reperfusão do miocárdio. Doxorrubicina e etanol podem induzir cardiotoxicidade por meio da geração de espécies reativas de oxigênio.

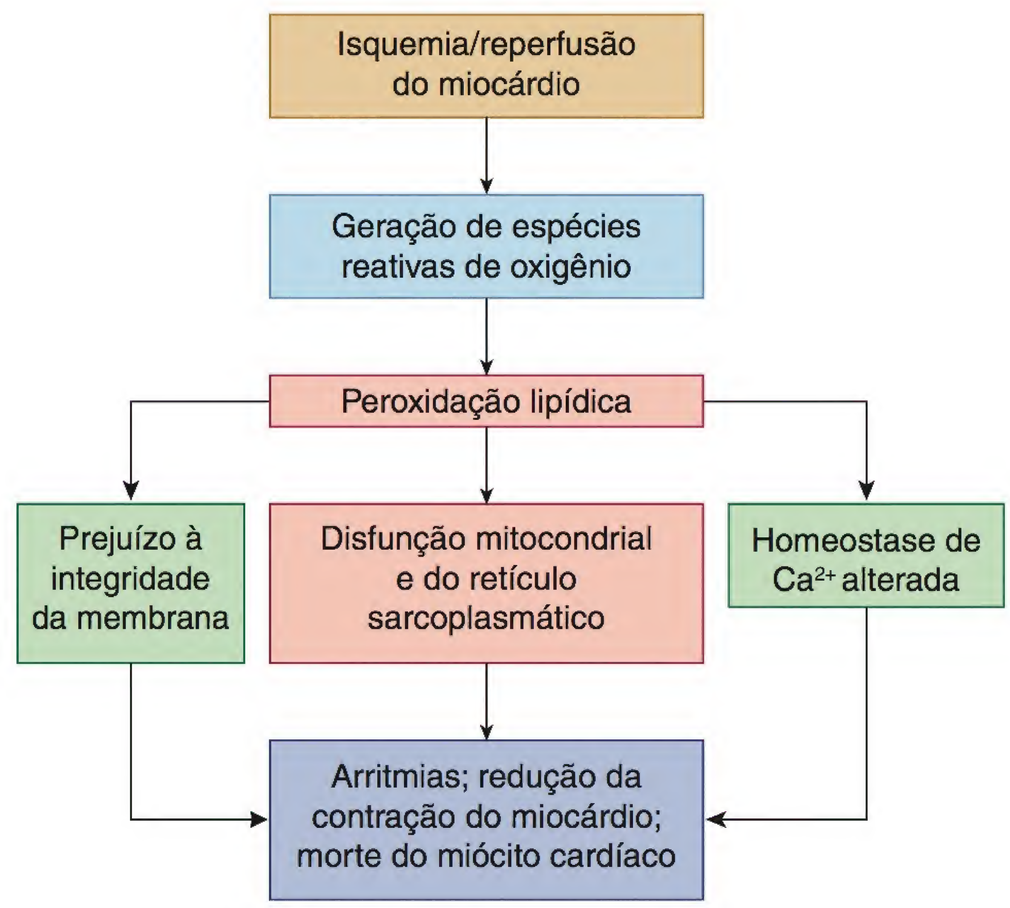


FIGURA 18.5 Efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio na isquemia e reperfusão do miocárdio.

Disfunção organelar

Lesão sarcolemal, disfunção do RS e sobrecarga de Ca^{2+} Todas as células contêm sistemas elaborados para a regulação de Ca^{2+} intracelular. Em razão de as concentrações extracelulares de Ca^{2+} serem, em geral, de várias ordens de magnitude maiores do que as intracelulares de Ca^{2+} livre no repouso, a membrana do sarcolema deve impedir um rápido influxo de Ca^{2+} e subsequente sobrecarga de Ca^{2+} (elevada concentração intracelular de Ca^{2+} livre sustentada). A principal organela reguladora de Ca^{2+} em miócitos cardíacos é o retículo sarcoplasmático (RS). Alterações da homeostase de Ca^{2+} cardíaco por substâncias tóxicas podem perturbar a regulação das funções celulares.

Lesão mitocondrial O ATP, a fonte de energia necessária para o funcionamento da maioria dos sistemas biológicos, é obtido principalmente por meio da fosforilação oxidativa da adenina difosfato (ADP) na mitocôndria. A fosforilação oxidativa pode ser afetada em vários locais ao longo da cadeia respiratória pelo uso de inibidores químicos diferentes, como rotenona, cianeto ou antimicina A. No entanto, desacopladores como o 2,4-dinitrofenol estimulam o fluxo de elétrons e a respiração, mas impedem a formação de ATP por criar um curtocircuito no fluxo normal de prótons na ATP sintase.

Apoptose e oncose

Nos períodos iniciais após um infarto do miocárdio, uma lesão isquêmica, uma lesão I/R ou uma lesão induzida por toxicantes, a morte de miócitos cardíacos provavelmente ocorre por meio de vias apoptóticas, enquanto a necrose ocorre posteriormente ou durante o estímulo lesivo. Vários peptídeos e citocinas ativam diretamente vias de sinalização apoptóticas e

de morte de miócitos cardíacos *in vitro*. O peptídeo natriurético atrial (ANP), a angiotensina II (também um estímulo para crescimento hipertrófico), o fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) e o Fas-ligante estão elevados no sangue e no miocárdio durante a progressão de várias doenças cardíacas. Xenobióticos associados à indução de apoptose de miócitos cardíacos *in vitro* incluem cocaína, daunorrubicina, doxorrubicina, isoproterenol, noradrenalina e estaurosporina.

CARDIOTOXICANTES

Agentes farmacêuticos

A cardiotoxicidade de um medicamento cardiovascular, muitas vezes, representa uma superexpressão de seu principal efeito farmacológico sobre o coração. Digitálicos, quinidina e procainamida, por exemplo, podem induzir arritmias cardíacas como uma ação farmacológica exagerada dos fármacos. Em contraste, os fármacos podem produzir cardiotoxicidade por ações que não estão necessariamente relacionadas ao seu uso terapêutico pretendido e aos principais efeitos farmacológicos. A Tabela 18.2 resume os principais agentes farmacêuticos com seus efeitos cardiotóxicos proeminentes e os mecanismos de toxicidade propostos.

Álcool e cardiomiopatia alcoólica A toxicidade aguda do etanol inclui condutividade reduzida e diminuição no limiar para fibrilação ventricular (excitação rápida e repetitiva dos ventrículos). O consumo crônico do etanol por humanos tem sido associado a alterações do miocárdio, arritmias e uma condição conhecida como cardiomiopatia alcoólica, que pode apresentar sintomas semelhantes à insuficiência cardíaca congestiva. O álcool é considerado o agente químico causal em até 40% de todos os casos de pacientes com cardiomiopatia dilatada não isquêmica. Metabólitos do metabolismo do etanol podem levar à peroxidação lipídica dos miócitos cardíacos ou oxidação de tióis de proteínas citosólicas e membranares. Por exemplo, os efeitos diretos do acetaldeído no miocárdio incluem a inibição da síntese de proteínas, a inibição do sequestro de Ca^{2+} pelo RS, alterações na respiração mitocondrial e distúrbios na associação entre actina e miosina.

Glicosídeos cardíacos Os glicosídeos cardíacos (digoxina e digitoxina) utilizados no tratamento de insuficiência cardíaca congestiva inibem a Na^+, K^+-ATPase, elevam o Na^+ intracelular, ativam a troca Na^+/Ca^{2+} e aumentam a disponibilidade de Ca^{2+} intracelular para contração. A cardiotoxicidade pode ser resultado da sobrecarga de Ca^{2+}, e podem ocorrer arritmias. Os glicosídeos cardíacos também podem tornar o potencial de repouso menos negativo ou induzir pós-despolarizações atrasadas, com contrações ventriculares prematuras. Os glicosídeos cardíacos também exibem atividade parassimpatomimética por meio da estimulação vagal, porém, em doses mais elevadas, os efeitos simpatomiméticos podem ocorrer quando o fluxo simpático é reforçado. Os principais efeitos adversos cardíacos dos glicosídeos cardíacos incluem condução AV retardada com bloqueio do potencial, batimentos ectópicos e bradicardia. Em superdosagem, pode se desenvolver uma taquicardia ventricular, que pode progredir para fibrilação ventricular.

Simpatomiméticos A cardiotoxicidade induzida por catecolaminas inclui aumento da frequência cardíaca, maior demanda de oxigênio no miocárdio e aumento geral da pressão arterial sistólica. Essas ações podem causar hipoxia do miocárdio e, se forem suficientemente graves, levam à produção de lesões necróticas no coração. Altas concentrações de catecolaminas também produzem insuficiência coronariana resultante de vasoespasmo coronariano, diminuição dos níveis de reserva de fosfatos de alta energia, causada por disfunção mitocondrial, aumento da permeabilidade do sarcolema, levando a alterações de eletrólitos, metabolismo lipídico alterado, resultando no acúmulo de ácidos graxos, sobrecarga de Ca^{2+} intracelular, e apoptose de miócitos cardíacos.

Antraciclinas e outros agentes antineoplásicos A doxorrubicina e a daunorrubicina são agentes antineoplásicos cuja utilidade clínica é limitada em razão de sua cardiotoxicidade. Os efeitos agudos imitam respostas do tipo anafilático, tais como taquicardia e arritmias diversas. Esses efeitos geralmente são gerenciáveis e, provavelmente, são devidos à potente liberação de histamina pelos mastócitos, algumas vezes observada após dosagem aguda. A exposição prolongada a antraciclinas, muitas vezes, resulta no desenvolvimento de cardiomiopatias e, em estágios graves, insuficiência cardíaca congestiva. As principais hipóteses que têm sido sugeridas para explicar o início da cardiomiopatia induzida pelas antraciclinas estão listadas na Tabela 18.2.

Fármacos de ação central

Antidepressivos tricíclicos Os antidepressivos tricíclicos apresentam ações cardiotóxicas significativas, particularmente em casos de superdosagem, que incluem anormalidades no ECG e morte súbita cardíaca. Como resultado do bloqueio α-adrenérgico periférico, a hipotensão postural é um efeito cardiovascular predominante. Embora muitos efeitos adversos estejam relacionados aos efeitos anticolinérgicos e às ações adrenérgicas desses agentes, os tricíclicos também podem ter ações cardiotóxicas diretas em miócitos cardíacos e fibras de Purkinje, deprimindo correntes de Na^+ para dentro da célula e de Ca^{2+} e K^+ para fora.

Agentes antipsicóticos Muitos agentes antipsicóticos exercem profundos efeitos cardiovasculares, mais comumente hipotensão ortostática. Os medicamentos antipsicóticos podem alterar a função cardiovascular por meio de ações indiretas sobre o sistema nervoso central (SNC) e o autônomo e por meio de ações diretas sobre o miocárdio. Efeitos diretos sobre o miocárdio incluem ações inotrópicas negativas e efeitos quinidina-*like*.

Anestésicos gerais O uso de anestésicos gerais inalatórios pode reduzir o débito cardíaco em 20 a 50%, diminuir a contratilidade e produzir arritmias. Esses anestésicos podem sensibilizar o coração aos efeitos arritmogênicos da adrenalina endógena ou a agonistas β-adrenérgicos. O halotano, como protótipo, pode bloquear canais de Ca^{2+}, perturbar a homeostase de Ca^{2+} associada ao RS e modificar a capacidade de resposta das proteínas contráteis à ativação por Ca^{2+}.

Anestésicos locais Os anestésicos locais interferem na transmissão de impulsos nervosos em outros órgãos excitáveis, incluindo o coração e o sistema circulatório. A cardiotoxicidade da cocaína inclui sua capacidade de agir como um anestésico local e

TABELA 18.2 Cardiotoxicidade dos principais agentes farmacêuticos

Agentes	Manifestações cardiotóxicas	Mecanismos propostos de cardiotoxicidade
Etanol	↓ Condutividade (aguda) Cardiomiopatia (crônica)	Acetaldeído (metabólito) Homeostase de $[Ca^{2+}]$ alterada Estresse oxidativo Lesão mitocondrial
Fármacos antiarrítmicos		
Classe I (disopiramida, encainida, flecainida, lidocaína, mexiletina, moricizina, fenitoína, procainamida, propafenona, quinidina, tocainida)	↓ Velocidade de condução Pró-arritmogênico	Bloqueio de canais de Na^+
Classe II (acebutolol, esmolol, propranolol, sotalol)	Bradicardia, bloqueio cardíaco	Bloqueio de receptores β-adrenérgicos
Classe III (amiodarona, bretílio, dofetilida, ibutilida, quinidina, sotalol)	↑ Duração do potencial de ação Prolongamento do intervalo QTc Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de K^+
Classe IV (diltiazem, verapamil)	↓ Condução AV Efeito inotrópico negativo Efeito cronotrópico negativo Bradicardia	Bloqueio do canal de Ca^{2+}
Fármacos inotrópicos e agentes relacionados		
Glicosídeos cardíacos (digoxina, digitoxina)	Duração do potencial de ação Condução AV Parassimpaticomiméticos (doses baixas) Simpatomiméticos (doses altas)	Inibição da Na^+, K^+, –ATPase, ↑$[Ca^{2+}]_i$
Agentes sensibilizadores de Ca^{2+} (adibendan, levosimendan, pimobendan)	↓ Função diastólica? Pró-arritmogênico	↑ Sensibilidade a Ca^{2+} Inibição da fosfodiesterase
Outros agentes sensibilizadores de Ca^{2+} (alopurinol, oxipurinol)	?	Inibição da xantina oxidase
Catecolaminas (dobutamina, adrenalina, isoproterenol, noradrenalina)	Taquicardia Morte do miócito cardíaco	Ativação do receptor β_1-adrenérgico Vasoconstrição coronariana Disfunção mitocondrial ↑$[Ca^{2+}]_i$ Estresse oxidativo Apoptose
Broncodilatadores (albuterol, bitolterol, fenoterol, formoterol, metaproterenol, pirbuterol, procaterol, salmeterol, terbutalina)	Taquicardia	Ativação não seletiva de receptores α_1-adrenérgicos
Descongestionantes nasais (efedrina, alcaloides de efedrina, *ma huang*, fenilefrina, fenilpropanolamina, pseudoefedrina)	Taquicardia	Ativação não seletiva de receptores α_1-adrenérgicos
Supressores de apetite (anfetaminas, fenfluramina, fentermina)	Taquicardia Hipertensão pulmonar Doença valvular	↑ Serotonina? Bloqueio de canais de Na^+?
Fármacos antineoplásicos		
Antraciclinas (daunorrubicina, doxorrubicina, epirrubicina)	Cardiomiopatia Insuficiência cardíaca	Homeostase da $[Ca^{2+}]_i$ alterada Estresse oxidativo Lesão mitocondrial Apoptose
5-Fluorouracil Ciclofosfamida	Pró-arritmogênico Morte do miócito cardíaco	Vasoespasmo coronariano? 4-Hidroxiciclofosfamida (metabólito) Homeostase de íons alterada
Fármacos antibacterianos		
Aminoglicosídeos (amicacina, gentamicina, canamicina, netilmicina, estreptomicina, tobramicina)	Efeito inotrópico negativo	↓ $[Ca^{2+}]_i$

(*continua*)

TABELA 18.2 Cardiotoxicidade dos principais agentes farmacêuticos (*Continuação*)

Agentes	Manifestações cardiotóxicas	Mecanismos propostos de cardiotoxicidade
Macrolídeos (azitromicina, claritromicina, diritromicina, eritromicina)	↑ Duração do potencial de ação Prolongamento do intervalo QTc Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de K^+
Fluoroquinolonas (grepafloxacino, moxifloxacino, esparfloxacino)	↑ Duração do potencial de ação Prolongamento do intervalo QTc Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de K^+
Tetraciclinas	Efeito inotrópico negativo	↓ $[Ca^{2+}]_i$
Cloranfenicol	Efeito inotrópico negativo	↓ $[Ca^{2+}]_i$
Fármacos antifúngicos		
Anfotericina B	Efeito inotrópico negativo	Bloqueio do canal de Ca^{2+}? Bloqueio do canal de Na^+? ↑ Permeabilidade de membrana?
Flucitosina	Pró-arritmogênico Parada cardíaca	5-Fluorouracil (metabólito) Vasoespasmo coronariano?
Fármacos antivirais		
Inibidores do nucleosídeo análogo de transcriptase reversa (estavudina, zalcitabina, zidovudina)	Cardiomiopatia	Lesão mitocondrial Inibição da DNA polimerase mitocondrial Inibição da síntese de DNA mitocondrial Inibição da síntese de ATP mitocondrial
Fármacos de ação central		
Antidepressivos tricíclicos (amitriptilina, desipramina, doxepina, imipramina, protriptilina)	Elevação do segmento ST Prolongamento do intervalo QTc Pró-arritmogênico Parada cardíaca	Homeostase de íons alterada Bloqueio do canal de Ca^{2+} Bloqueio do canal de Na^+ Bloqueio do canal de K^+
Inibidores da recaptação seletiva de serotonina (fluoxetina)	Bradicardia Fibrilação atrial	Bloqueio do canal de Ca^{2+} Bloqueio do canal de Na^+
Fármacos antipsicóticos fenotiazínicos (clorpromazina, tioridazina)	Efeitos anticolinérgicos Efeito inotrópico negativo Prolongamento do intervalo QTc Prolongamento do intervalo PR	Bloqueio do canal de Ca^{2+}?
Outros fármacos antipsicóticos (clozapina)	Achatamento das ondas T Depressão do segmento ST	
Anestésicos gerais inalatórios (enflurano, desflurano, halotano, isoflurano, metoxiflurano, sevoflurano)	Efeito inotrópico negativo Diminuição do débito cardíaco Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de Ca^{2+} Homeostase de Ca^{2+} alterada Sensibilização de receptores β-adrenérgicos
Outros anestésicos gerais (propol)	Efeito inotrópico negativo	Bloqueio do canal de Ca^{2+} Homeostase de Ca^{2+} alterada Sensibilização de receptores β-adrenérgicos
Anestésicos locais		
Cocaína	Efeito simpatomimético Isquemia do miocárdio Pró-arritmogênico Parada cardíaca Morte do miócito cardíaco	Bloqueio do canal de Na^+ Vasoespasmo coronariano, infarto Homeostase de Ca^{2+} alterada Lesão mitocondrial Estresse oxidativo Apoptose
Outros anestésicos locais (bupivacaína, etidocaína, lidocaína, procainamida)	Diminuição da excitabilidade ↓ Velocidade de condução Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de Na^+
Anti-histamínicos (astemizol, terfenadina)	↑ Duração do potencial de ação Prolongamento do intervalo QTc Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de K^+

(*continua*)

TABELA 18.2 Cardiotoxicidade dos principais agentes farmacêuticos (*Continuação*)

Agentes	Manifestações cardiotóxicas	Mecanismos propostos de cardiotoxicidade
Imunossupressores (rapamicina, tacrolimus)	Cardiomiopatia Insuficiência cardíaca	Homeostase de Ca^{2+} alterada
Fármacos diversos		
Cisaprida	↑ Duração do potencial de ação Prolongamento do intervalo QTc Pró-arritmogênico	Bloqueio do canal de K^+
Metilxantinas (teofilina)	↑ Débito cardíaco Taquicardia Pró-arritmogênico	Homeostase de Ca^{2+} alterada Inibição da fosfodiesterase
Sildenafil	?	Inibição da fosfodiesterase
Agentes de radiocontraste (diatrizoato de meglumina, ioexol)	Pró-arritmogênico Parada cardíaca	Apoptose?

bloquear a condução nervosa por inibir reversivelmente os canais de Na^+. No coração, a cocaína diminui a taxa de despolarização e a amplitude do potencial de ação, reduz a velocidade de condução e aumenta o período refratário efetivo. A cocaína também inibe a recaptação de noradrenalina e dopamina em terminais nervosos simpáticos. O efeito resultante dessas duas ações farmacológicas é induzir e manter uma fibrilação ventricular. Além disso, a cocaína provoca a morte de miócitos cardíacos e infarto do miocárdio, mas esse mecanismo de ação ainda precisa ser elucidado.

Anti-histamínicos Os anti-histamínicos de segunda geração terfenadina e astemizol foram associados às arritmias com risco de morte do tipo *torsades de pointes*.* Os efeitos eletrofisiológicos incluem repolarização alterada, ondas T invertidas, prolongamento do intervalo QT, bloqueio AV, taquicardia ventricular e fibrilação. Esses anti-histamínicos produzem arritmias cardíacas bloqueando o canal retificador de K^+ tardio, prolongando a duração do potencial de ação em miócitos cardíacos.

Substâncias de ocorrência natural

A Tabela 18.3 resume a cardiotoxicidade de várias substâncias que ocorrem naturalmente, incluindo manifestações cardiotóxicas e mecanismos propostos de toxicidade.

Esteroides e hormônios relacionados O miocárdio expressa receptores de esteroides, e o coração é um órgão-alvo para efeitos desses agentes. Além disso, o tecido cardíaco pode sintetizar hormônios esteroides, embora a capacidade de síntese seja muito menor do que de outros tecidos clássicos de síntese de esteroides.

Estrógenos Os estrógenos alteram a proliferação de fibroblastos cardíacos, pois eles têm-se mostrado capazes tanto de aumentar como de diminuir a proliferação dessas células. Além disso, foram relatados efeitos antiapoptóticos do estrógeno em miócitos cardíacos.

* N. de T.: *Torsades de pointes* é uma forma rara e distinta de taquicardia ventricular polimórfica (VT), caracterizada por uma mudança gradual na amplitude e torção dos complexos QRS em torno da linha isoelétrica.

Progestinas Tanto as que ocorrem naturalmente como as sintéticas atuam de maneira oposta aos estrógenos. Os efeitos da progesterona sobre o metabolismo lipídico são semelhantes aos dos androgênios. Infelizmente, o tratamento com estrógeno em oposição à progestina pode neutralizar os benefícios cardiovasculares dos estrógenos sobre o metabolismo lipídico. Muito pouco se sabe sobre os efeitos diretos da progesterona sobre o coração.

Androgênios Os esteroides anabolizantes aumentam o colesterol LDL e diminuem o HDL. Evidências crescentes sugerem que os esteroides anabolizantes androgênicos podem exercer ações cardiotóxicas diretas, incluindo inchaço mitocondrial, dissolução das unidades contráteis do sarcômero e fluxos rápidos de Ca^{2+} (em ambos os sentidos) em miócitos cardíacos. Em humanos, o uso de altas doses de esteroides anabólico-androgênicos tem sido associado a hipertrofia cardíaca e infarto do miocárdio.

Glicocorticoides A terapia crônica com glicocorticoides, muitas vezes, resulta em colesterol total, LDL e HDL elevados. Além disso, os glicocorticoides são conhecidos por causar retenção de água e Na^+ por meio da ativação dos receptores mineralocorticoides, o que pode produzir hipertensão durante a terapia crônica. Glicocorticoides parecem estimular diretamente a fibrose cardíaca por regulação da expressão de colágeno cardíaco, independentemente de alterações hemodinâmicas. Além disso, podem induzir o crescimento hipertrófico e alterar a expressão de vários transportadores de íons.

Hormônios da tireoide A triiodotironina e a tiroxina exercem efeitos profundos sobre o sistema cardiovascular. Estados de hipotireoidismo estão associados com a diminuição da frequência cardíaca, da contratilidade e do débito cardíaco, enquanto os estados de hipertireoidismo estão associados com o aumento da frequência cardíaca, da contratilidade, do débito cardíaco, da fração de ejeção e da massa cardíaca. A resistência vascular periférica está inalterada ou diminuída, independentemente do estado da tireoide. Os hormônios tireoidianos promovem o crescimento hipertrófico dos miócitos cardíacos, alteram a expressão de proteínas do RS cardíaco de controle de Ca^{2+} e podem promover arritmias.

TABELA 18.3 Cardiotoxicidade de substâncias de ocorrência natural

Agentes	Manifestação cardiotóxica	Mecanismos propostos de cardiotoxicidade
Estrógenos		
Estrógenos naturais (17β-Estradiol, estrona, estriol) Estrógenos sintéticos (dietilestilbestrol, equilina, etinilestradiol, mestranol, quinestrol) Estrógenos não esteroides (bisfenol A, dietilestilbestrol, DDT, genisteína)	Prolongamento do intervalo QTc? Cardioproteção?	Diferenças de gênero na expressão de canais de K^+? Efeito antiapoptótico? Atividade antioxidante? ↑ Atividade da Na^+, K^+, –ATPase? Bloqueio do canal de Ca^{2+}? Outros mecanismos?
Progestinas (desogestrel, hidroxiprogesterona, medroxiprogesterona, noretindrona, noretinodrel, norgestimato, norgestrel, progesterona)	Aumento da toxicidade da cocaína?	Mecanismos?
Androgênios		
Androgênios naturais (androstenediona, deidroepiandrosterona, diidrotestosterona, testosterona) Androgênios sintéticos (boldenona, danazol, fluoximesterona, metandrostenolona, metenolona, metiltestosterona, nandrolona, oxandrolona, oximetolona, estanazolol)	Infarto do miocárdio Hipertrofia cardíaca	Lesão mitocondrial? Homeostase de Ca^{2+} alterada? Outros mecanismos?
Glicocorticoides		
Glicocorticoides naturais (corticosterona, cortisona, hidrocortisona) Glicocorticoides sintéticos (p. ex., dexametasona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona)	Hipertrofia cardíaca Fibrose cardíaca	Expressão aumentada de colágeno Outros mecanismos?
Mineralocorticoides (aldosterona)	Fibrose cardíaca Insuficiência cardíaca	Expressão aumentada de colágeno Outros mecanismos?
Hormônios tireoidianos (tiroxina, triiodotironina)	Taquicardia Efeito inotrópico positivo Aumento do débito cardíaco Hipertrofia cardíaca Pró-arritmogênico	Homeostase de Ca^{2+} alterada
Citocinas		
Interleucina-1β	Efeito inotrópico negativo Morte do miócito cardíaco	↑ Expressão da óxido nítrico sintase Apoptose
Interleucina-2	Efeito inotrópico negativo	↑ Expressão da óxido nítrico sintase
Interleucina-6	Efeito inotrópico negativo	↑ Expressão da óxido nítrico sintase
Interferon-γ	Cardiomiopatia Pró-arritmogênico	↑ Expressão da óxido nítrico sintase Homeostase de íons alterada
Fator de necrose tumoral-α (TNF–α)	Efeito inotrópico negativo Morte do miócito cardíaco	↑ Expressão da óxido nítrico sintase ↑ Produção de esfingosina ↓ Transientes de Ca^{2+} Apoptose

Citocinas Os efeitos cardiovasculares das citocinas podem ser classificados como pró-inflamatórios, anti-inflamatórios ou cardioprotetores. Muitas dessas citocinas estão elevadas durante as doenças cardiovasculares, tais como lesões I/R, infarto do miocárdio e insuficiência cardíaca congestiva. Além disso, os miócitos cardíacos podem atuar como fonte sintética de muitas dessas citocinas.

Interleucina-1β A IL-1β é conhecida por exercer ação inotrópica negativa e induzir a apoptose de miócitos cardíacos. Os efeitos da IL-1β em miócitos cardíacos são provavelmente mediados pela indução da óxido nítrico sintase e/ou pelo aumento da produção de óxido nítrico.

Fator de necrose tumoral alfa (TNF-α) O TNF-α induz a morte de células-alvo por apoptose, incluindo os miócitos cardíacos. Ele também exerce efeito inotrópico negativo em miócitos cardíacos.

Toxinas animais e vegetais As toxinas animais do veneno de cobras, aranhas, escorpiões e organismos marinhos exercem profundos efeitos sobre o sistema cardiovascular. Há, também, um número de plantas – como dedaleira, espirradeira e aconitum* – que contêm componentes tóxicos e provocam efeitos adversos no sistema cardiovascular.

Agentes industriais

A Tabela 18.4 fornece um resumo selecionado de agentes industriais de destaque com seus efeitos cardiotóxicos e mecanismos propostos de cardiotoxicidade.

* N. de T.: Nomes regionais das plantas *Digitalis purpurea, Nerium oleander* e *Aconitum* sp.

TABELA 18.4 Cardiotoxicidade de alguns agentes industriais

Agentes	Manifestações cardiotóxicas	Mecanismos propostos de cardiotoxicidade
Solventes Tolueno (produtos para pintura)	Pró-arritmogênico	↓ Atividade parassimpática ↑ Sensibilidade adrenérgica Homeostase de íons alterada
Hidrocarbonetos halogenados (tetracloreto de carbono, clorofórmio, cloropentafluoretano, 1,2-dibromotetrafluorometano, diclorodifluorometano, *cis*-dicloroetileno, *trans*-dicloroetileno, diclorotetrafluoretano, difluoretano, brometo de etila, cloreto de etila, fluorocarbono 502, heptafluoro-1-iodopropano, 1,2-hexafluoretano, cloreto de isopropila, brometo de metila, cloreto de metila, cloreto de metileno, monoclorodifluoretano, monoclorodifluorometano, octafluorociclobutano, cloreto de propila, 1,1,1-tricloroetano, tricloroetano, tricloroetileno, triclorofluorometano, tricloromonofluoroetileno, triclorotrifluoretano, trifluoroiodometano, trifluorobromometano)	Pró-arritmogênico Efeito inotrópico negativo Diminuição do débito cardíaco	↓ Atividade parassimpática ↑ Sensibilidade adrenérgica Homeostase de íons alterada Fluxo sanguíneo coronariano alterado
Cetonas (p. ex. acetona, metiletilcetona)	Pró-arritmogênico	↓ Atividade parassimpática ↑ Sensibilidade adrenérgica Homeostase de íons alterada
Metais pesados (Cádmio, cobalto, chumbo) (Bário, lantânio, magnésio, níquel)	Efeito inotrópico negativo Hipertrofia cardíaca Pró-arritmogênico Pró-arritmogênico	Formação de complexos Homeostase de Ca^{2+} alterada Bloqueio de canal de Ca^{2+}

Solventes Solventes industriais agem no sistema nervoso, que, por sua vez, é responsável por regular a atividade elétrica cardíaca. Em razão de sua alta solubilidade em lipídeos, os solventes podem se dispersar em membranas celulares e afetar a fluidez da membrana, a transdução de sinal e a fosforilação oxidativa. Sua influência sobre a função cardíaca também pode envolver a liberação de hormônios circulantes, tais como catecolaminas, vasopressina e serotonina. Em uma perspectiva mais geral, solventes industriais normalmente produzem efeito depressor sobre o SNC e atenuação da contratilidade do miocárdio.

Alcanos halogenados Os alcanos halogenados abrangem uma ampla gama de agentes industriais e farmacêuticos. Sua natureza altamente lipofílica permite que eles atravessem facilmente a barreira hematencefálica, na qual produzem depressão do SNC. Hidrocarbonetos halogenados deprimem a frequência cardíaca, a contratilidade e a condução. Alguns desses agentes sensibilizam o coração aos efeitos arritmogênicos dos agonistas β-adrenérgicos.

VISÃO GERAL DA FISIOLOGIA VASCULAR

O sistema vascular, uma complexa rede de vasos de diferentes tamanhos e complexidade, fornece oxigênio e nutrientes aos tecidos de todo o corpo e remove os resíduos do metabolismo celular. O sangue oxigenado que volta dos pulmões para o coração é esvaziado pela aorta, que gradualmente se ramifica, dando origem a pequenos vasos que chegam aos órgãos, individualmente (Fig. 18.6). O sangue retorna ao coração para reoxigenação por meio do sistema venoso antes do início dos ciclos subsequentes.

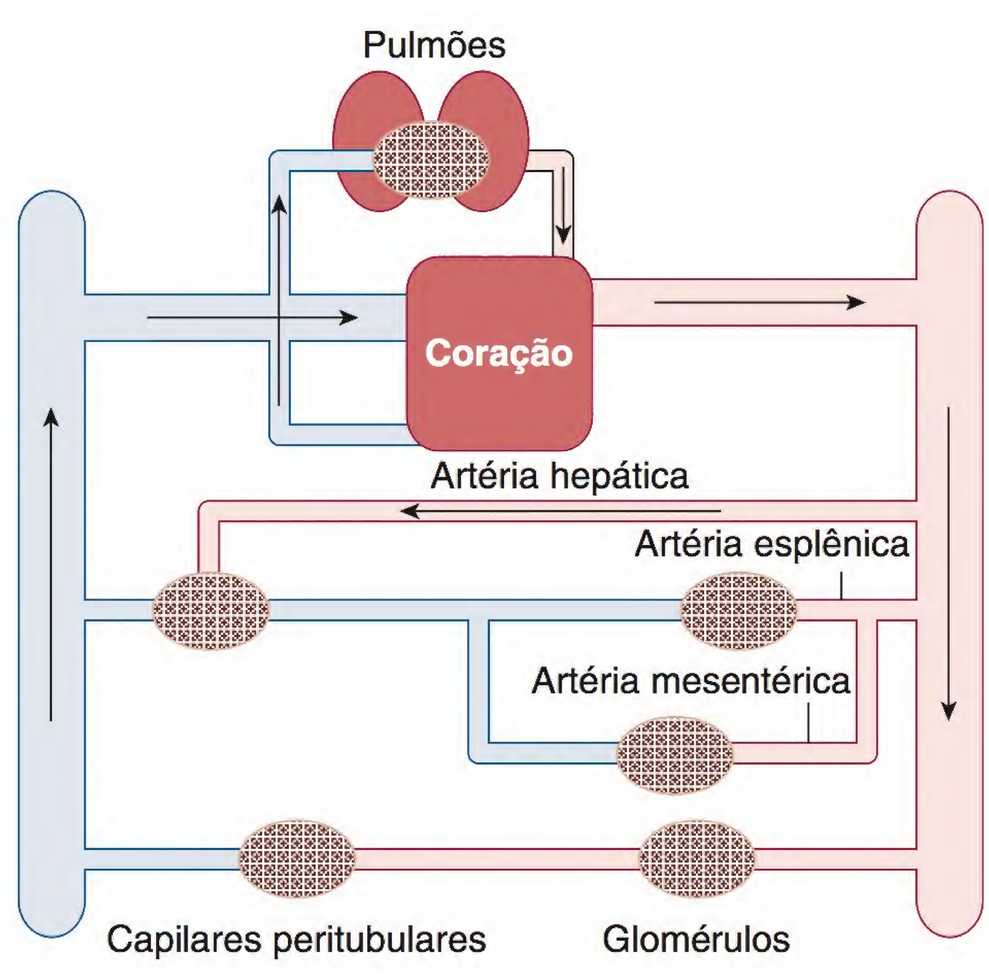


FIGURA 18.6 Diagrama esquemático do suprimento vascular para órgãos selecionados. Os leitos capilares representados por uma malha que conecta artérias (direita) com as veias (esquerda); a distribuição da vasculatura em diversos órgãos (fígado, rins e pulmões) indica a importância do sistema vascular na toxicologia.

As células endoteliais vasculares desempenham um papel fundamental na regulação da hemostasia, do tônus vascular e da angiogênese. A angiogênese envolve a formação de vasos sanguíneos secundários para a migração, a proliferação e a diferenciação das células vasculares.

DISTÚRBIOS DE ESTRUTURA E FUNÇÃO VASCULAR

Estudos epidemiológicos em humanos estabeleceram uma correlação positiva entre a lesão na parede dos vasos sanguíneos e a ocorrência de doenças vasculares como aterosclerose e hipertensão. A aterosclerose é uma importante mudança estrutural na parede do vaso, envolvendo espessamentos focais da camada íntima, formada após a migração de células musculares lisas para a camada íntima e sua proliferação descontrolada. Componentes da matriz extracelular como colágeno e elastina, lipídeos intra e extracelulares, carboidratos complexos, produtos do sangue e cálcio acumulam-se em diferentes graus com o avanço da lesão. A placa também contém células inflamatórias, como monócitos e leucócitos infiltrados, que participam na progressão da resposta patológica. A principal consequência da formação do ateroma é o estreitamento progressivo da luz arterial, que leva a uma restrição no fornecimento de sangue aos pontos mais distais. Tais mudanças podem resultar em hipertensão renal, acidente vascular encefálico, isquemia miocárdica e infarto.

Alterações na pressão arterial são percebidas frequentemente durante as intoxicações agudas. A hipotensão, uma redução sustentada da pressão arterial sistêmica, é comum em intoxicações com depressores do SNC ou agentes anti-hipertensivos, bem como durante as reações anafiláticas. A hipotensão postural, particularmente em idosos, pode ser induzida por agentes terapêuticos, tais como fármacos que reduzem o débito cardíaco ou que diminuem o volume de sangue.

A hipertensão pode ser resultado de um aumento da concentração de vasoconstritores circulantes, como a angiotensina II e as catecolaminas, ou de perturbações na regulação local mediada por mecanismos metabólicos, miogênicos ou angiogênicos. O aumento da resistência vascular tem sido associado com o aumento global da espessura da parede, causado, em parte, pela hipertrofia e proliferação de células musculares lisas. Xenobióticos podem exercer efeitos adversos sobre as células musculares lisas vasculares, de forma que a função de capacitância do sistema venoso pode ser comprometida. A elevação sustentada da pressão arterial também tem sido associada com a destruição de capilares nos tecidos e com angiogênese compensatória. A hipertensão sustentada é o fator de risco predisponente mais importante para a aterosclerose coronariana e cerebral. A hipertensão vascular produz lesões degenerativas, em parte, pelo aumento da permeabilidade vascular, o que leva à entrada de componentes do sangue na parede do vaso.

A *trombose*, formação de uma massa semissólida de componentes do sangue na circulação, pode ocorrer tanto nas artérias quanto nas veias como resultado da exposição a um agente tóxico. A predisposição à trombose ocorre por meio da indução da agregação plaquetária, um aumento em sua adesividade, ou da criação de um estado de hipercoagulabilidade por meio de um aumento ou ativação de fatores de coagulação. Mudanças bruscas no fluxo de sangue podem desencadear a trombose arterial, enquanto a estase venosa contribui para o desenvolvimento de trombose venosa. A Tabela 18.5 fornece uma lista parcial dos agentes trombogênicos e seus possíveis mecanismos de ação. Partes de trombos podem ser liberados e viajam no sistema vascular até ficarem presos como um êmbolo em um vaso com um calibre ainda menor do que o de sua origem. A consequência depende do local da parada, mas pode resultar em morte. Os esteroides contraceptivos são conhecidos por produzir tromboembolia.

MECANISMOS DE TOXICIDADE VASCULAR

Agentes químicos absorvidos pelas vias gastrintestinal, cutânea, respiratória e intravenosa entram em contato direto com as células vasculares antes de chegarem a outros locais no corpo. Essa propriedade por si só coloca o sistema vascular em maior risco de agressão tóxica. Muito da toxicidade a órgãos-alvo envolve um componente microvascular significativo. Agentes químicos podem produzir alterações degenerativas ou inflamatórias nos vasos sanguíneos como consequência direta de um efeito farmacológico excessivo ou secundária à interação de produtos químicos ou de seus metabólitos com componentes da parede dos vasos.

As células endoteliais representam a primeira barreira celular para o movimento de toxicantes carreados pelo sangue do lúmen do vaso para as camadas mais profundas de sua parede. Essas células são particularmente suscetíveis a agressões tóxicas. Ao alcançarem o espaço subendotelial, toxicantes podem causar lesões nas células musculares lisas mediais e/ou fibroblastos da adventícia. A resposta vasculotóxica é também dependente da influência de (1) proteínas da matriz extracelular que influenciam o comportamento das células; (2) fatores de coagulação que ditam a extensão do envolvimento hemostático; (3) hormônios e fatores de crescimento que regulam a função vascular; e (4) lipoproteínas plasmáticas, algumas das quais modulam o metabolismo celular e facilitam o transporte e a liberação de substâncias hidrofóbicas.

Os mecanismos mais comuns de toxicidade vascular incluem: (1) alterações na estrutura e função da membrana; (2) estresse oxidativo, levando à interrupção de mecanismos de regulação gênica com comprometimento das defesas antioxidantes e perda generalizada da homeostase; (3) bioativação vasoespecífica de pró-toxicantes; e (4) acúmulo preferencial do toxicante ativo nas células vasculares. Múltiplos mecanismos muitas vezes operam ao mesmo tempo no curso da resposta tóxica. Curiosamente, a modulação do crescimento e da diferenciação em células vasculares é um *endpoint* comum de lesão vasculotóxica.

A reatividade vascular é regulada pela transmissão de sinais a partir da superfície para o interior da célula e/ou pela modulação direta da estrutura e da função de proteínas contráteis. Normalmente, distúrbios da reatividade vascular envolvem distúrbios da regulação iônica. A toxicidade vascular também pode ocorrer devido a deficiências na capacidade das células-alvo de detoxificar o toxicante ativo ou de lidar com estados pró-oxidantes.

O metabolismo oxidativo das lipoproteínas plasmáticas é fundamental na iniciação e na progressão da aterosclerose. As LDLs são oxidadas por radicais livres de oxigênio liberados pelas células arteriais. Essas LDLs modificadas atraem macrófagos e evitam sua migração a partir dos tecidos. A oxidação de lipo-

TABELA 18.5 Compostos causadores de trombose

Mecanismo de ação	Agentes	Efeitos específicos
Dano endotelial	Homocisteína	Desendotelização
	Endotoxina	Desendotelização
	Acetriozato de sódio	Trombose disseminada em capilares e veias
Dinâmica circulatória fisiopatológica	Ergotamina	Vasoconstrição profunda em artérias periféricas
	Pitressina (vasopressina)	Vasoconstrição profunda nas artérias coronariana e mesentérica
	Contraceptivos orais	Estase venosa em extremidades inferiores
	Bloqueadores de ACh e autonômicos	Hipotensão hipovolêmica e estase
	Agentes simpaticomiméticos	Elevação da pressão sanguínea; distensão dos vasos que causam dano endotelial
Efeitos nas plaquetas	Serotonina	Diminuição da contagem de plaquetas (acima de 10^6 mm^{-3})
	Progesterona	
	Testosterona	
	Hormônio somatotrófico	
	Vimblastina	
	Vincristina	
	Vermelho do Congo	
	Ristocetina	
	Trombina	
	Adrenalina	
	Adenosina difosfato	Aumento da adesividade plaquetária
	Trombina	
	Azul de Evans	
Efeitos nos fatores de coagulação	Adrenalina	Aumento dos fatores VIII e IX
	Guanitidina	Efeitos secundários da liberação de adrenalina
	Debrisoquina	
	Tiramina	
	Ácido lático	Ativação do fator de Hageman (via infusão IV)
	Ácidos graxos de cadeia longa	Ativação dos fatores de contato (via infusão IV)
	Catecolaminas	Elevação dos níveis circulatórios de ácidos graxos
	ACTH	
	Timolépticos	
	Nicotina	
	Contraceptivos orais	Diminuição dos níveis de antitrombina III
	Cloreto de mercúrio	Inibição da fibrinólise
	Corticosteroides	
	Ácido ε-aminocaproico	Antiativador de plasminogênio
	Aprotinina	Inibidores de proteinase

proteínas de baixa densidade gera espécies de oxigênio ativas que podem lesar diretamente as células endoteliais e aumentar a adesão e a migração de monócitos e linfócitos T no espaço subendotelial. A subsequente liberação de moduladores de crescimento de células endoteliais e/ou macrófagos pode promover a proliferação de células musculares lisas e a secreção de proteínas da matriz extracelular.

A toxicidade vascular pode se dar pelo acúmulo de substâncias químicas na parede vascular. Hidrocarbonetos aromáticos e outros contaminantes ambientais ubíquos particionam para a fase lipídica das placas ateroscleróticas. As consequências da agressão vasculotóxica são ditadas pela interação entre as células vasculares e não vasculares e por fatores não celulares, tais como proteínas da matriz extracelular, fatores de coagulação, hormônios, complexos imunes e lipoproteínas plasmáticas. Além disso, a resposta tóxica pode ser modulada por fatores mecânicos e hemodinâmicos, como pressão arterial, tensão de cisalhamento e viscosidade do sangue.

CLASSIFICAÇÃO DOS AGENTES VASCULOTÓXICOS

Um resumo dos agentes selecionados e seus efeitos vasculares pode ser encontrado nas Tabelas 18.6 a 18.8. Alguns exemplos específicos são discutidos a seguir.

Agentes farmacêuticos

Nicotina O alcaloide vegetal nicotina, em doses farmacológicas, aumenta a frequência cardíaca e a pressão arterial como resultado da estimulação dos gânglios simpáticos e da medula adrenal. A nicotina é um fator causal ou agravante no infarto do miocárdio e cerebral, na gangrena e no aneurisma.

Cocaína Distúrbios cardiovasculares são comumente associados ao abuso de cocaína. As ações centrais da substância dispa-

TABELA 18.6 Agentes vasculotóxicos: agentes industriais e ambientais

Agente	Fontes	Efeitos vasculares proeminentes	Doenças associadas
Alilamina	Precursor sintético	A bioativação de compostos precursores pela aminoxidase gerando acroleína e peróxido de hidrogênio resulta em danos às células da musculatura lisa, proliferação das células de músculo liso na camada íntima em grandes artérias	Aterosclerose
β-aminopropionitrila		Danos ao tecido conectivo vascular; lesões aórticas; formação de ateroma, aneurisma	
Boro		Hemorragia; edema; aumento da permeabilidade vascular nos pulmões	Edema pulmonar
Butadieno	Precursor sintético	Hemangiossarcomas em vários órgãos	
Carbamil hidrazina		Tumores nos vasos sanguíneos pulmonares	Câncer
Dissulfeto de carbono	Fumigante/solvente	Efeito microvascular no fundo do olho e na retina; lesão direta nas células endoteliais; formação de ateroma	Doença vascular coronariana Aterosclerose
Herbicidas clorofenoxi			Hipertensão
Dimetilnitrosamina		Diminuição do fluxo hepático; hemorragia; necrose	Oclusão de veias
Dinitrotoluenos	Precursor sintético		
4-Fluoro-10-metil-12-benzantraceno		Lesão da artéria pulmonar; lesão coronariana	
Glicerol		Forte vasoconstrição renal	Insuficiência renal aguda
Fluoreto de hidrogênio		Hemorragia; edema nos pulmões	Edema pulmonar
Ácido hidrazinobenzoico	Constituinte do *A. bisporus*		
Paraquat		Danos vasculares nos pulmões e no cérebro	Púrpura cerebral
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	Fumaça de tabaco		
Alcaloides pirrolidínicos		Vasculite pulmonar; danos nas células da musculatura lisa vascular; proliferação do endotélio e tecido conectivo vascular no fígado	Hipertensão pulmonar; doença veno-oclusiva hepática
Praguicidas organofosforados			Arteriosclerose cerebral
Toxina T-2	Micotoxina do *Fusarium*		
Cloreto de vinila		Hipertensão portal; tumores de vasos sanguíneos hepáticos	Câncer

ram um aumento nos níveis circulantes de catecolaminas e um estado generalizado de vasoconstrição. Hipertensão e acidentes vasculares encefálicos são notáveis complicações vasculares. Em mulheres grávidas, alterações vasculares induzidas por cocaína têm sido associadas a abortos espontâneos.

Contraceptivos orais Os esteroides contraceptivos orais podem produzir distúrbios tromboembólicos, tais como flebite venosa profunda e embolia pulmonar. Trombose venosa intracraniana e aumentos secundários no risco de acidente vascular encefálico também têm sido observados.

Produtos naturais

Endotoxinas bacterianas As endotoxinas bacterianas produzem diversos efeitos tóxicos em muitos leitos vasculares. No fígado, causam inchaço das células endoteliais e adesão de plaquetas às paredes dos sinusoides. No pulmão, as endotoxinas causam aumento da permeabilidade vascular e hipertensão pulmonar. As alterações nos vasos coronarianos incluem desaparecimento (esfoliação) de células endoteliais seguido por necrose das células musculares lisas mediais. A fase terminal dos efeitos da endotoxina sobre a vasculatura sistêmica resulta em hipotensão acentuada.

TABELA 18.7 Agentes vasculotóxicos: gases

Agente	Fontes	Efeitos vasculares proeminentes	Doenças associadas
Emissões veiculares		Hemorragia e infarto nos hemisférios cerebrais; formação de ateroma na aorta	Aterosclerose
Monóxido de carbono	Ambiental	Dano à camada íntima; edema; formação de ateroma	Aterosclerose
Óxido nítrico		Vacuolização das células endoteliais das arteríolas; edema; espessamento das membranas alvéolo-capilares	Edema pulmonar
Oxigênio		Vasoconstrição – dano na retina; aumento da permeabilidade vascular retiniana – edema; aumento da permeabilidade vascular pulmonar – edema	Cegueira no neonato; diminuição do campo visual em adultos; edema
Ozônio		Lesão arterial no pulmão	Edema pulmonar

TABELA 18.8 Agentes vasculotóxicos: agentes terapêuticos e compostos correlatos

Classe (agente)	Fontes	Efeitos vasculares proeminentes	Doenças associadas
Antibióticos/antimitóticos			
Ciclofosfamida		Lesões das células endoteliais pulmonares	
5-Fluorodesoxiuridina		Hemorragia do trato digestório; trombose portal	
Gentamicina		Vasoconstrição renal de longa duração	Insuficiência renal
Agentes vasoativos			
Anfetamina		Lesões cerebrovasculares secundárias ao abuso do fármaco	Lesões arteriais disseminadas similares a periarterite nodosa
Diidroergotamina		Espasmo dos vasos retinianos	
Ergonovina		Espasmo das artérias coronarianas	Angina
Ergotamina		Fenômeno vasoespástico com e sem atrofia medial	Gangrena dos tecidos periféricos; trombose
Adrenalina		Trombos arteriais periféricos em ratos hiperlipêmicos	Participa da trombogênese
Histamina		Espasmo coronariano; danos nas células endoteliais na veia porta hepática	
Metisergida		Proliferação da camada íntima; oclusão vascular das artérias coronarianas	Doença arterial coronariana
Nicotina	Tabaco	Alteração da citoarquitetura do endotélio aórtico; aumento das microvilosidades	
Nitritos e nitratos		"Envelhecimento" das artérias coronarianas	Vasodilatação recorrente
Noradrenalina		Espasmo das artérias coronarianas; dano endotelial	
Efetores metabólicos			
Aloxano		Retinopatia microvascular	Diabetes; cegueira
Cloroquina		Retinopatia	
Frutose		Lesões microvasculares na retina	Condição diabetes-*like*
Iodoacetatos		Alterações vasculares na retina	

(*continua*)

TABELA 18.8 Agentes vasculotóxicos: agentes terapêuticos e compostos correlatos (*Continuação*)

Classe (agente)	Fontes	Efeitos vasculares proeminentes	Doenças associadas
Anticoagulantes			
Varfarina sódica		Vasculite espinal; hematoma	Sangramento descontrolado; hemorragia
Radiocontrastes			
Metrizamida; metrizoato		Coagulação; necrose na vasculatura celíaca e renal	
Adesivos de cianoacrilato			
n-butil-2-cianoacrilato		Granulação das artérias com massas fibrosas	
Etil-2-cianoacrilato		Degenaracão da parede vascular com trombose	
Metil-2-cianoacrilato		Necrose vascular	
Compostos diversos			
Fumarato de aminorex		Espessamento íntimo e medial de artérias pulmonares	Hipertensão pulmonar
Aspirina		Dano endotelial; erosão gástrica Obliteração de pequenos vasos; infartos isquêmicos	
Colesterol		Formação de ateroma; dano arterial	Aterosclerose
Homocisteína		Aumento da fragilidade vascular; perda do endotélio; proliferação de células da musculatura lisa; promoção da formação de ateroma	Aterosclerose
Contraceptivos orais		Trombose na vasculatura cerebral e periférica	Distúrbios tromboembólicos
Penicilamina		Lesão vascular na matriz do tecido da parede arterial; depósito glomerular de imunocomplexos; inibição da síntese de tecido conectivo vascular	Glomerulonefrite
Talco e outros silicatos		Trombose arteriolar pulmonar; êmbolos	
Tetradecilsulfato de Na		Esclerose das veias	
Tromboxano A_2		Extrema vasoconstrição cerebral	Isquemia cerebrovascular
Vitamina D	Dietética	Calcificação	

Vitamina D A hipervitaminose por vitamina D causa degeneração medial, calcificação das artérias coronarianas e proliferação de células musculares lisas em animais de laboratório.

Agentes industriais

Metais pesados Elementos carreados por água e alimentos (chumbo, selênio, cromo, cobre, mercúrio, cádmio e zinco), bem como elementos carreados pelo ar (vanádio e chumbo), reagem com grupamentos sulfidrila, carboxila ou fosfato. Metais como magnésio, cobalto, manganês, níquel, cádmio e chumbo também bloqueiam os canais de cálcio. Proteínas intracelulares de ligação a cálcio, tais como a calmodulina, são alvos biologicamente relevantes de mercúrio e chumbo. Estudos epidemiológicos têm mostrado que uma grande porcentagem de pacientes com hipertensão arterial têm suas reservas de chumbo aumentadas, e o efeito vasoconstritor direto do chumbo pode estar relacionado. O mercúrio inorgânico produz vasoconstrição de vasos pré-glomerulares e rompe a integridade da barreira hematencefálica. A abertura dessa barreira resulta em extravasamento de proteínas plasmáticas através das paredes vasculares para os tecidos adjacentes ao cérebro. A intoxicação aguda por arsênico provoca dilatação dos capilares, o que contribui para a transudação de plasma e diminuição do volume intravascular. O cromo parece desempenhar um papel importante na manutenção da integridade vascular.

Hidrocarbonetos aromáticos Os hidrocarbonetos aromáticos, incluindo os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, ligam-se prontamente às lipoproteínas plasmáticas, o que pode desempenhar um papel importante na toxicidade vascular. O benzo[*a*] pireno e seus metabólitos provocam alterações na proliferação de células musculares lisas por meio de vários mecanismos, incluindo o aumento da transcrição de genes de crescimento por vias mediadas pelos receptores de aril hidrocarbonetos, interação e inativação da proteína quinase C e conversão de moléculas precursoras em metabólitos que podem formar aductos covalentes com DNA.

Monóxido de carbono O monóxido de carbono induz danos focais na camada íntima e edema em animais de laboratório em concentrações provenientes de fontes ambientais, tais como escapamentos de automóveis, fumaça de tabaco e combustíveis fósseis. No entanto, não está claro qual dos muitos produtos químicos presentes nessas misturas medeiam o efeito aterogênico (lesão endotelial, alterações no perfil lipídico e proliferação de células musculares lisas). Os efeitos tóxicos de monóxido do carbono têm sido atribuídos à formação de carboxiemoglobina, uma vez que ela diminui a capacidade de transporte de oxigênio do sangue, causando anemia funcional.

REFERÊNCIAS

Acosta D (ed): *Cardiovascular Toxicology*, 4th ed. New York: Informa Healthcare, 2008.

QUESTÕES

1. Em qual dos locais listados a seguir NÃO é possível encontrar despolarização espontânea?
   a. Nodo SA
   b. Miocárdio
   c. Nodo AV
   d. Feixe de His
   e. Fibras de Purkinje

2. Qual dos seguintes cenários pode aumentar a contratilidade do miocárdio?
   a. Atividade aumentada da Na^+, K^+-ATPase
   b. Atividade aumentada da Ca^{2+}-ATPase do retículo sarcoplasmático
   c. Atividade diminuída da Ca^{2+}-ATPase do retículo sarcoplasmático
   d. Níveis intracelulares de cálcio diminuídos
   e. Níveis intracelulares de K^+ aumentados

3. Todas as afirmações a seguir referentes à função cardíaca anormal são verdadeiras, EXCETO:
   a. Arritmias ventriculares são geralmente mais graves do que arritmias atriais.
   b. Hipertrofia ventricular é uma causa comum de arritmias ventriculares.
   c. Aterosclerose da artéria coronariana é uma causa importante de doença isquêmica do coração.
   d. Insuficiência do lado direito do coração resulta em edema pulmonar.
   e. A taquicardia é classificada como um aumento da frequência cardíaca de repouso (> 100 batimentos/min).

4. O equilíbrio de íons é muito importante na manutenção de um ritmo cardíaco normal. Qual das seguintes afirmações é VERDADEIRA?
   a. O bloqueio do canais de K^+ diminui a duração do potencial de ação.
   b. O bloqueio do canais de Ca^{2+} tem um efeito inotrópico positivo.
   c. A inibição de canais de Na^+ aumenta velocidade de condução.
   d. O bloqueio da Na^+, K^+-ATPase aumenta a contratilidade.
   e. O cálcio é transportado para a célula por meio de uma Ca^{2+}-ATPase.

5. Qual das seguintes alternativas NÃO é a causa mais provável de lesão por reperfusão do miocárdio?
   a. Flutuações de pH celular
   b. Danos no sarcolema
   c. Geração de radicais tóxicos de oxigênio
   d. Sobrecarga de Ca^{2+}
   e. Inibição da cadeia de transporte de elétrons

6. Qual das seguintes afirmações sobre as manifestações cardiotóxicas do consumo de etanol é FALSA?
   a. A toxicidade aguda de etanol faz a condutividade diminuir.
   b. O consumo crônico de álcool está associado a arritmias.
   c. A toxicidade aguda do etanol causa um limiar aumentado para fibrilação ventricular.
   d. A toxicidade crônica do álcool pode resultar em cardiomiopatia.
   e. O acetaldeído é um mediador de cardiotoxicidade.

7. Os glicosídeos cardíacos:
   a. Aumentam a atividade da Na^+, K^+-ATPase.
   b. Tornam o potencial de repouso mais negativo.
   c. Podem ter efeitos simpatomiméticos e parassimpatomiméticos.
   d. Diminuem a contratilidade ventricular.
   e. Aumentam a condução AV.

8. Qual das seguintes opções NÃO é uma manifestação cardiotóxica comum do abuso de cocaína?
   a. Efeitos parassimpatomiméticos
   b. Infarto do miocárdio
   c. Morte de miócitos cardíacos
   d. Fibrilação ventricular
   e. Isquemia

9. O uso de altas doses de esteroides anabólicos androgênicos não é associado com qual das opções a seguir?
   a. Aumento no LDL
   b. Hipertrofia cardíaca
   c. Infarto do miocárdio
   d. Aumento da expressão de óxido nítrico sintase
   e. Diminuição no HDL

10. Qual das opções a seguir NÃO é um mecanismo comum de toxicidade vascular?
    a. Rompimento da membrana
    b. Estresse oxidativo
    c. Bioativação de pró-toxicantes
    d. Redução e acúmulo de LDL no endotélio
    e. Acúmulo de toxicantes nas células vasculares

CAPÍTULO

19

Respostas Tóxicas da Pele

Robert H. Rice e Theodora M. Mauro

A PELE COMO UMA BARREIRA
- **Histologia da pele**
- **Absorção percutânea**
  - Liberação transdérmica de medicamentos
  - Medidas de penetração
- **Biotransformação**

DERMATITE DE CONTATO
- **Dermatite irritante**
- **Queimaduras químicas**
- **Dermatite alérgica de contato**
  - Diagnóstico e testes

FOTOTOXICOLOGIA
- **Respostas adversas à radiação eletromagnética**
- **Fotossensibilidade**
  - Fototoxicidade
  - Fotoalergia

ACNE
- **Cloracne**

DISTÚRBIOS PIGMENTARES

DOENÇA GRANULOMATOSA

URTICÁRIA

NECRÓLISE EPIDÉRMICA TÓXICA

CÂNCER DE PELE
- **Radiação**
- **Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos**
- **Promoção de tumor de pele em camundongos**
- **Arsênico**

PONTOS-CHAVE

- A pele participa diretamente da regulação térmica, eletrolítica, hormonal, metabólica e imune.
- A absorção percutânea depende da hidrofobicidade dos xenobióticos, que afeta sua habilidade de partição nos lipídeos epidérmicos, e da taxa de difusão através dessa barreira.
- As células da epiderme e as unidades pilossebáceas liberam enzimas de biotransformação.
- A dermatite irritante é uma resposta relacionada não imune causada pela ação direta de um agente na pele.
- A dermatite alérgica de contato representa uma reação de hipersensibilidade retardada (tipo IV) na qual quantidades diminutas de material despertam reações nítidas.

TABELA 19.1 Fatores que influenciam a resposta cutânea

Variável	Comentário
Localização no corpo	
Palmas, solas	Estrato córneo espesso – boa barreira física Local comum de contato com substâncias químicas Oclusão com vestimentas protetoras
Áreas intertriginosas (axilas, virilha, pescoço, membranas entre os dedos, umbigo, genitália)	Áreas úmidas, oclusas Acumula substâncias químicas Aumenta a absorção percutânea
Face	Frequentemente exposta Superfície lipídica interage com substâncias hidrofóbicas Substâncias químicas frequentemente transferidas das mãos
Pálpebras	Função pobre como barreira – pele fina Sensível a substâncias irritantes
Região pós-auricular	Acumula substâncias químicas Oclusão
Couro cabeludo	Acumula substâncias químicas Folículos pilosos suscetíveis a dano metabólico
Predisposição a doença cutânea – dermatite atópica	Sensibilidade aumentada a substâncias irritantes Função de barreira enfraquecida
Psoríase	Função de barreira enfraquecida
Fatores genéticos	Predisposição a disfunções da pele Variação na sensibilidade a substâncias irritantes Suscetibilidade a sensibilização de contato
Temperatura	Vasodilatação – absorção percutânea aumentada Acúmulo de suor aumentado
Umidade	Acúmulo de suor aumentado
Estação do ano	Variação da umidade relativa Rachaduras e alterações de pele relacionadas ao vento

A PELE COMO UMA BARREIRA

A pele protege o corpo contra agressões externas com o objetivo de manter a homeostase interna. Ela participa diretamente na regulação térmica, eletrolítica, hormonal, metabólica e imune. Em lugar de meramente repelir agentes nocivos, a pele pode reagir a eles com vários mecanismos defensivos que servem para prevenir dano cutâneo interno ou difundido. Se uma agressão é severa ou intensa o bastante para derrotar a função protetora da pele, um dano agudo ou crônico manifesta-se prontamente. A apresentação específica depende de uma variedade de fatores intrínsecos e extrínsecos, incluindo locais do corpo, duração da exposição e outras condições experimentais (Tab. 19.1).

Histologia da pele

A pele consiste em dois grandes componentes: a camada externa, ou epiderme, e a camada subjacente, derme, as quais são separadas por uma membrana basal (Fig. 19.1). A junção ordinariamente não é lisa, tem uma aparência ondulada. Além disso, os apêndices da pele (folículos capilares, glândulas sebáceas e glândulas écrinas) atravessam a epiderme e estão embutidos na derme.

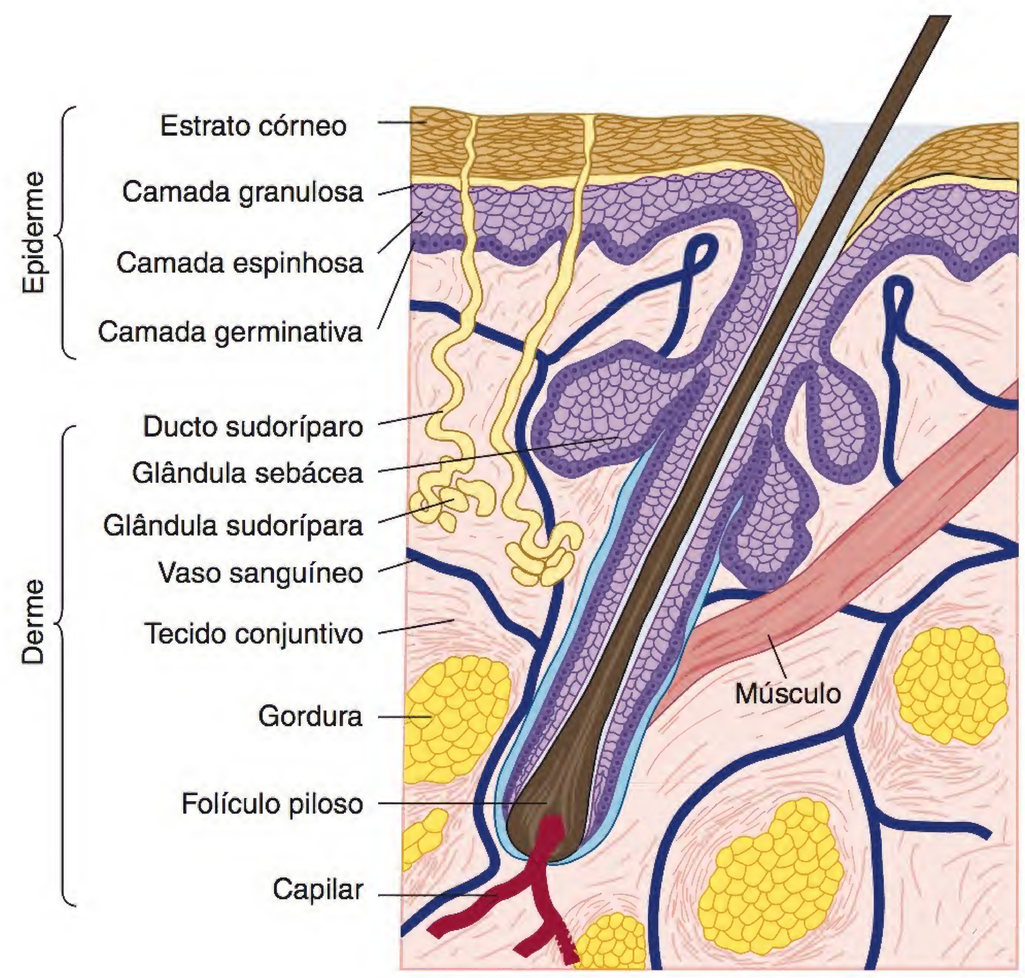


FIGURA. 19.1 Diagrama de um corte transversal da pele humana.

Em espessura, a derme constitui cerca de 90% da pele e tem uma função ampla de suporte. Separando a derme dos tecidos subjacentes há uma camada de adipócitos, cujo acúmulo de gordura tem uma função amortecedora. O sangue que supre a epiderme tem origem nos capilares localizados na região ondulada, na junção derme-epiderme. Os capilares também suprem os bulbos dos folículos pilosos e as células secretoras das glândulas écrinas (sudoríparas). Os ductos dessas glândulas carregam uma solução salina diluída para a superfície da pele, na qual sua evaporação proporciona resfriamento.

A epiderme interfolicular é um epitélio escamoso estratificado consistindo principalmente de queratinócitos, os quais são firmemente unidos uns aos outros e à membrana basal. Os melanócitos estão distribuídos de maneira escassa na derme, com concentração ocasional abaixo da lâmina basal e na papila dos folículos pilosos. Na epiderme, essas células são estimuladas por luz ultravioleta para produzir grãos de melanina. Os grãos de melanina são extrudados e absorvidos pelos queratinócitos próximos, os quais se tornam, desse modo, pigmentados. Migrando através da epiderme há numerosas células de Langerhans (CLs), que têm participação importante na resposta imune da pele a agentes estranhos.

Os queratinócitos da camada basal constituem o compartimento germinativo. Quando uma célula basal se divide, uma das descendentes destaca-se da lâmina basal e migra para fora. À medida que as células se movem em direção à superfície da pele, elas sofrem um notável programa de diferenciação terminal. Elas expressam gradualmente novos marcadores de proteínas e acumulam proteínas de queratina. Na camada granular, as células tornam-se achatadas e aumentam em volume cerca de 40 vezes. Os grânulos de lipídeos fundem-se à membrana plasmática substituindo o ambiente aquoso no espaço intercelular com seu conteúdo. Ao mesmo tempo, a membrana plasmática dessas células se torna permeável, e as organelas celulares são degradadas enquanto um envelope de proteína é sintetizado imediatamente abaixo da membrana plasmática. A membrana é caracteristicamente alterada pela perda de fosfolipídeos e pela adição de esfingolipídeos.

Esse programa de diferenciação terminal, que começa quando os queratinócitos deixam a camada basal, produz a camada mais superficial da pele, o estrato córneo. Não mais viáveis, as células maduras (chamadas de *corneócitos*) têm teor de queratina de 80%. Elas são gradualmente eliminadas da superfície e substituídas pelas que vêm de camadas inferiores. O processo dura, em geral, 2 semanas para as células basais alcançarem o estrato córneo e outras 2 semanas para serem eliminadas da superfície. Em circunstâncias nas quais a camada mais externa é deficiente em razão de doença ou trauma físico ou químico, a barreira ao ambiente que a pele proporciona é inferior à proporcionada pela pele normal e sadia.

Absorção percutânea

O estrato córneo é a primeira barreira para absorção percutânea. Doenças (p. ex., psoríase) ou outras condições (p. ex., abrasão ou ferimento) que comprometem essa barreira podem permitir absorção muito aumentada de substâncias fracamente permeáveis. A camada viável de epiderme proporciona uma barreira muito menos efetiva porque agentes hidrofílicos difundem-se rapidamente na água intercelular, enquanto os agentes hidrofóbicos podem sofrer partição nas membranas celulares e ambos podem sofrer difusão imediata para a rede sanguínea na região ondulada da derme.

O estrato córneo evita perda de água dos tecidos subjacentes por evaporação. Seu caráter hidrofóbico reflete o teor lipídico do espaço intercelular. Os lipídeos, cujo maior componente são esfingolipídeos, têm alto teor de ceramidas de cadeia longa, cuja remoção compromete seriamente a função de barreira como medida de perda de água transepidérmica. O estrato córneo é comumente hidratado (em geral 20% de água), sendo a umidade localizada em proteína de corneócito, mas pode absorver uma porção muito maior de água em imersão prolongada, reduzindo, por isso, a efetividade da barreira a agentes com caráter hidrofílico. De fato, a oclusão da pele com invólucro plástico, permitindo a retenção de perspiração na parte inferior, é uma técnica que costuma ser empregada para melhorar a absorção de agentes aplicados à superfície da pele. A penetração pelo ar é, em geral, muito baixa para merecer preocupação.

A absorção através da pele é, agora, incorporada em modelagem farmacocinética para estimar riscos potenciais de exposições. O grau de penetração depende dos detalhes das condições de exposição, sendo proporcional à concentração do soluto (assumindo que está diluído), ao tempo e à quantidade de superfície de pele exposta. Além disso, dois fatores intrínsecos contribuem para a taxa de absorção de um dado composto: sua hidrofobicidade, que afeta sua habilidade de sofrer partição nos lipídeos epidérmicos, e sua taxa de difusão através dessa barreira. Uma medida da primeira propriedade é o coeficiente de partição octanol/água (K_{ow}). Isso é particularmente relevante para exposição a água contaminada, tal como ocorre durante o banho ou a natação. Todavia, a partição de um agente na pele é largamente afetada pela sua solubilidade ou adesão ao meio no qual é aplicado (incluindo solo). Similarmente, compostos muito hidrofóbicos, uma vez no estrato córneo, podem difundir apenas muito lentamente para regiões menos hidrofóbicas abaixo. A segunda propriedade é uma função inversa do peso molecular (PM) ou volume molecular. Assim, agentes hidrofóbicos de baixo peso molecular permeiam a pele melhor do que aqueles de alto peso molecular ou aqueles que são hidrofílicos. Para pequenas moléculas, a hidrofobicidade é um fator dominante em penetração.

A difusão através da epiderme é consideravelmente mais rápida em alguns locais anatômicos do que em outros. Uma lista em ordem de permeabilidade decrescente sob condições constantes tem a seguinte hierarquia: sola do pé > palma > escroto > testa > abdome. A absorção através dos apêndices epidérmicos é, em geral, negligenciada, apesar da habilidade dos agentes de evitar o estrato córneo por essa rota, porque a área combinada de superfície desses apêndices é uma pequena fração do total disponível para absorção. Todavia, a penetração através desses apêndices pode ser apreciável.

Liberação transdérmica de medicamentos Adesivos especialmente projetados (*patches*) costumam ser usados para liberar fármacos como clonidina, estradiol, testosterona, nitroglicerina, escopolamina, fentanil e nicotina para fins terapêuticos. As vantagens dessa abordagem sobre a dosagem oral incluem disponibilizar uma infusão constante por longos períodos (em geral 1 a 7 dias), evitando, dessa forma, grandes variações na concentração plasmática, impedindo exposição ao pH ácido do estômago e evitando a biotransformação no sistema digestório ou do metabolismo de primeira passagem pelo fígado.

Medidas de penetração Voluntários são submetidos a uma dose de medicamento, as concentrações em plasma ou urina são medidas em intervalos regulares, e as quantidades excretadas do corpo são estimadas. Para o trabalho *in vitro*, a pele extraída dividida por espessura pode ser usada em câmaras de difusão especial, embora seja necessário cuidado para preservar a viabilidade da camada viva de epiderme. O agente é removido para quantificação do lado de baixo por um fluido no qual o medicamento sofre partição, permitindo, assim, penetração continuada. Um arranjo mais simples comumente empregado utiliza pele de cadáver com a parte mais inferior da derme removida. Isso impede a capacidade de biotransformação, mas retém a função de barreira do estrato córneo. Para simplificar a determinação da cinética de penetração, podem ser usadas pequenas bordas da pele, e o fluxo capilar de sangue, monitorado para medir a penetração. Para esse objetivo, a pele de porco tem a utilidade em particular. Uma promissora variação minimizando diferenças entre espécies é o uso de enxerto de pele em animais experimentais para efetuar essa quantificação. A pele humana persiste bem em camundongos atímicos e mantém as propriedades normais de barreira.

Biotransformação

A habilidade da pele para metabolizar agentes que se difundem através dela contribui para essa função de barreira. Isso influencia a atividade biológica potencial de xenobióticos e fármacos de aplicação tópica, provocando sua degradação ou ativação como sensibilizantes de pele ou carcinógenos. A epiderme e as unidades pilossebáceas são os principais locais dessa atividade na pele. As enzimas liberadas na pele que participam na biotransformação incluem múltiplas formas de citocromo P450, epóxidohidrolase, UDP-glucuronosil transferase, quinona redutase e glutationastransferases. Outras atividades enzimáticas metabólicas detectadas nas células epidérmicas humanas incluem sulfatases, β-glucuronidase, *N*-acetil transferases, esterases e redutases. A região intercelular do estrato córneo tem atividades catabólicas (p. ex., proteases, lipases, glicosidases e fosfatases).

DERMATITE DE CONTATO

De todas as doenças ocupacionais da pele, a dermatite de contato contabiliza cerca de 90% das causas relatadas. Ela está entre as duas maiores categorias de formas irritantes e alérgicas. Ambas envolvem processos inflamatórios e podem ter características clínicas indistintas de eritema (vermelhidão), endurecimento (espessamento e falta de flexibilidade), escamosidade (descamação) e vesiculosidade (formação de pústulas) em áreas em contato direto com o agente químico. A Figura 19.2 mostra exemplos de vários tipos de dermatite de contato decorrentes de toxicidade dérmica ocupacional.

Dermatite irritante

A dermatite irritante é uma resposta não imune causada pela ação direta de um agente na pele. Variáveis extrínsecas como concentração, pH, temperatura, duração, frequência do contato e oclusão causam impacto significante na aparência da erupção. Ácidos fortes, bases, solventes e substâncias químicas instáveis ou reativas destacam-se entre os muitos irritantes conhecidos para os seres humanos.

Substâncias fortemente nocivas, como aquelas com pH muito alto ou muito baixo, podem produzir uma dermatite imediata, irreversível e com possibilidade de deixar cicatriz após uma exposição única. Esse fenômeno irritante agudo é semelhante a uma queimadura química e tem sido descrito como uma reação cáustica. Em geral, exposições simples a substâncias químicas potencialmente irritantes não irão produzir reações significativas; exposições repetidas resultam, por fim, em dermatite eczematosa com alterações clínicas características de dermatite alérgica de contato ou em uma erupção com fissuras e espessamento sem um componente substancial inflamatório. As substâncias químicas que induzem as duas últimas reações são chamadas de *irritantes marginais*.

Etiologias divergentes tornam difícil designar um mecanismo específico para a fisiopatologia de dermatite irritante. Agentes corrosivos, solventes, agentes oxidantes e redutores e agentes desidratantes agem como irritantes, rompendo a ultraestrutura de queratina* ou ferindo diretamente macromoléculas celulares fundamentais ou organelas. Os irritantes marginais requerem variáveis multifatoriais para causar doença e podem não ser capazes de produzir reações sob diversas circunstâncias. A variação do tempo de exposição necessário para produzir dermatite por irritantes conhecidos resulta das diferentes taxas de absorção percutânea, as quais dependem do agente específico selecionado.

Nenhum método de teste único obteve sucesso na determinação do potencial irritante de substâncias químicas específicas. Vários testes exploraram diversos fatores contribuintes necessários para esclarecer a dermatite irritante de contato. Tais testes envolvem tanto aplicação única quanto repetida do mesmo material sobre a pele. O uso de animais em testes de substâncias químicas potencialmente irritantes tem base em uma variedade de métodos epicutâneos (na superfície da epiderme) e tem sido utilizado por décadas. Em geral, tanto a pele intacta quanto a pele escarificada de coelhos albinos são testadas com vários materiais, sob *patches* oclusivos. **Os *patches* são removidos após 24 horas, e as áreas testadas da pele são avaliadas em seguida e novamente em 1 a 3 dias.

O ensaio *in vitro* Corrositex testa a habilidade de uma substância química para penetrar uma barreira moldada de colágeno hidratado e produzir uma alteração de coloração no sistema químico aquoso de detecção subjacente. A corrosividade relativa de uma substância química é determinada pelo tempo requerido para penetrar o colágeno e entrar no tampão líquido com indicador de pH.

Em testes com *patch* por agressão repetida, utilizados principalmente em seres humanos para avaliação do potencial de sensibilização alérgica, as substâncias químicas são colocadas na pele sob oclusão por 3 a 4 semanas. Os materiais do teste são substituídos a cada 2 ou 3 dias para manter uma quantidade adequada no local do *patch*. O teste é funcionalmente similar ao teste de irritabilidade cumulativa, em que *patches* são aplicados diariamente sob oclusão por 2 semanas em paralelo com substâncias-controle.

* N. de T.: Queratina do estrato córneo.

** N. de T.: A substância fica em contato com a pele, sob uma cobertura que é vedada, para impedir que o contato com a pele seja interrompido.

FIGURA 19.2 Exemplos de toxicidade ocupacional na pele. Os painéis, disponíveis no *website* do NIOSH (http://www.cdc.gov/niosh/topics/skin/occderm-slides/ocderm1.html), são uma pequena seleção do programa NIOSH 140 *slides* "Occupational Dermatoses – A Program for Physicians", preparado pelos Drs. E. Shmunes, M.M. Key, J.B. Lucas e J.S.Taylor. (*A*. Eczema de óleo de corte. *B*. Dermatite irritante atópica. *C*. Queimadura por óxido de etileno. *D*. Queimadura por exposição a álcali. *E*. Sensibilização a dicromato. *F*. Granulomas causados por berílio. *G*. Fototoxicidade provocada por suco de limão. *H*. Acne por óleo de corte. *I*. Leucoderma por antioxidantes de borracha. *J*. Hiperpigmentação de mercaptobenzotiazol.)

O teste de câmara de escarificação modifica os testes anteriormente mencionados por meio de abrasão da pele para expor a derme superior. Todos esses testes provocativos dependem de alterações clínicas evidentes, tais como eritema e endurecimento no local do desafio com um irritante em potencial.

Queimaduras químicas

Substâncias químicas extremamente corrosivas e reativas podem produzir necrose coagulativa imediata, que resulta em dano substancial aos tecidos, com ulceração e morte de tecido. Algumas vezes chamado de queimadura de terceiro grau, o dano não tem um componente inflamatório primário e, assim, pode não ser classificado como uma reação irritante. Em adição aos efeitos diretos da substância química, o tecido necrótico pode agir como um reservatório químico, resultando em dano cutâneo contínuo ou absorção percutânea e ferimento sistêmico após exposição. A Tabela 19.2 lista uma seleção de substâncias químicas corrosivas que são importantes do ponto de vista clínico.

Dermatite alérgica de contato

A dermatite alérgica de contato é uma reação de hipersensibilidade retardada (tipo IV). Basta uma diminuta quantidade para despertar reações nítidas. Ela é diferente da dermatite irritante de contato, na qual a intensidade da reação é proporcional à dose aplicada. Estima-se que 20% de toda dermatite de contato seja de natureza alérgica.

Para que a dermatite alérgica de contato ocorra, a pessoa precisa, primeiramente ser sensibilizada com o alergênico em potencial. O contato subsequente desperta os sintomas clínicos e patológicos clássicos. Para desenvolver uma resposta imune a um sensibilizante, uma pessoa precisa estar geneticamente predisposta a se tornar sensibilizada, ter contato suficiente com uma substância química sensibilizante e, então, ter repetidos contatos com o sensibilizante mais tarde.

A dermatite de contato pode ocorrer após exposição a qualquer número dos milhares de alergênicos a que as pessoas estão potencialmente expostas no dia a dia. A Tabela 19.3 lista alergênicos frequentes com base em modelos de exposição comuns. O

TABELA 19.2 Algumas substâncias químicas que causam queimadura de pele

Substância química	Comentário
Amônia	Corrosivo dérmico potente O contato com gás comprimido pode causar ulceração por frio intenso
Óxido de cálcio (CaO)	Queimaduras químicas graves Reação extremamente exotérmica – dissolução em água pode causar queimaduras por calor
Cloro	Líquido e vapores concentrados causam morte celular e ulceração
Óxido de etileno	Soluções e vapores podem queimar Gás comprimido pode causar ulceração por frio intenso
Ácido clorídrico (HCl)	Queimadura grave com formação de cicatriz
Ácido fluorídrico (HF)	Altas concentrações causam queimadura grave, dolorida e de lenta recuperação Concentrações mais baixas causam ferimento cutâneo retardado A absorção cutânea pode levar a anormalidades eletrolíticas e morte Medicações tópicas contendo cálcio e sais quaternários de amônio são usadas para limitar o dano
Peróxido de hidrogênio	Altas concentrações causam queimadura grave e bolhas
Brometo de metila	A exposição ao líquido produz bolhas e queimaduras profundas
Óxidos de nitrogênio	A umidade da pele facilita a formação de ácido nítrico, causando graves queimaduras de coloração amarela
Fósforo	O fósforo branco continua queimando sobre a pele em presença de ar
Fenol	Extremamente corrosivo, mesmo em baixas concentrações A absorção sistêmica pelos locais de queimadura pode resultar em arritmias cardíacas, dano renal e morte
Hidróxido de sódio	Altas concentrações causam queimadura profunda, desnaturando imediatamente a queratina
Diisocianato de tolueno	Queimaduras graves por contato O contato com a pele raramente resulta em sensibilização respiratória

contato com a maioria dos alergênicos acontece, na maioria das vezes, no local de trabalho.

Há vários alergênicos – como níquel, cromo, cobalto e alguns flavorizantes alimentícios – que são, também, ingeridos com grande frequência. Em casos nos quais um indivíduo tem sensibilidade de contato com um agente que é administrado sistemicamente (via oral), pode ocorrer uma erupção cutânea generalizada com sintomas associados, como cefaleia, mal-estar e artralgia. Erupções menos traumáticas podem incluir a ampliação de uma dermatite de contato anterior à mesma substância, erupções vesiculares nas mãos e uma erupção eczematosa em áreas flexoras. A dermatite de contato sistêmica pode produzir uma reação de hipersensibilidade do tipo retardada e/ou depósito de imunoglobulinas e componentes de complemento na pele. Esses depósitos são potentes indutores de resposta inflamatória secundária e são responsáveis pela fisiopatologia inicial de muitas pústulas e doenças de tecido conjuntivo da pele.

Reações cruzadas entre substâncias químicas podem ocorrer se estas compartilharem grupos funcionais similares críticos para a formação de alergênicos completos (haptenos com proteínas carreadoras). Essas reações podem causar dificuldades no controle da dermatite de contato porque a prevenção de alergênicos conhecidos e substâncias com potencial de reação cruzada é necessária para a melhora. A Tabela 19.4 lista substâncias que frequentemente apresentam reações cruzadas. O diagnóstico adequado pode ser dificultado por sensibilização concomitante a duas substâncias químicas diferentes presentes no mesmo produto ou sensibilização simultânea a duas substâncias químicas em diferentes produtos.

Diagnóstico e testes O teste com *patch* é comumente usado para encontrar o agente químico responsável por causar dermatite de contato. Os *patches* são colocados nas costas lavadas dos pacientes, contendo uma pequena quantidade de um alergênico em potencial. O diagnóstico com teste de *patch* utiliza concentrações padronizadas de material dissolvido ou suspenso em *petrolatum* ou água que são colocadas em câmaras de aço inoxidável aderidas a fitas de acrílico. As câmaras são deixadas no local por 48 horas, e uma leitura inicial é feita no momento da remoção dos *patches*. Leituras subsequentes também são feitas 24 a 96 horas depois, porque é comum ocorrem reações retardadas. As reações são classificadas como positivas se ocorrerem eritema (vermelhidão) e endurecimento (espessamento de pele) no local do teste. É necessária a adesão estrita a protocolos estabelecidos para tirar conclusões sobre a relevância clínica das reações. Evitar e substituir o agente agressor provoca melhora na maioria dos casos em poucas semanas. Reações químicas cruzadas precisam ser conhecidas durante a interpretação (Tabela 19.4).

Em teste com animais, uma substância química é aplicada à pele intacta ou escarificada ou aplicada por meio de injeção intradérmica com ou sem adjuvante. A reação da pele a um desafio subsequente com a substância química é observada e classificada, em uma tentativa de identificar os agentes causadores.

TABELA 19.3 Alergênicos de contato comuns

Fonte	Alergênicos comuns	
Medicamentos de uso tópico/produtos de higiene	**Antibióticos** Bacitracina Neomicina Polimixina Aminoglicosídeos Sulfonamidas **Preservativos** Cloreto de benzalcônio Formaldeído Liberadores de formaldeído Quaternium-15 Imidazolidinil ureia Diazolidinil ureia DMDM hidantoína Metilcloroisotiazolona	**Compostos de uso terapêutico** Benzocaína Fluoruracila Idoxuridina α-Tocoferol (vitamina E) Corticoides **Outros** Aldeído cinâmico Etilenodiamina Lanolina *p*-Fenilenodiamina Propilenoglicol Benzofenonas Fragrâncias Tioglicolatos
Plantas e árvores	Ácido abiético Bálsamo do Peru Rosina (colofônio)*	Pentadecilcatecóis Sesquiterpeno lactona Tuliposídeo A
Antissépticos	Cloramina Clorexidina Cloroxilenol Diclorofeno Dodecilaminoetilglicina HCl	Glutaraldeído Hexaclorofeno Timerosal (Mertiolate)** Mercuriais Tintas contendo trifenilmetano
Produtos da borracha	Difenilguanidina Hidroquinona Mercaptobenzotiazol *p*-Fenilenodiamina	Monobenzoato de resorcinol Benzotiazol sulfenamidas Ditiocarbamatos Thiurans
Couro	Formaldeído Glutaraldeído	Dicromato de potássio
Produtos de papel	Ácido abiético Formaldeído Nigrosina	Rosina (colofônio) Trifenilfosfato Corantes
Colas e adesivos	Bisfenol A Epicloridrina Formaldeído Monômeros acrílicos Cianoacrilatos	Resinas epóxi Resinas com *p*-(*t*-butil) formaldeído Resinas com tolueno sulfonamida Resinas com ureia formaldeído
Metais	Cromo Cobalto	Mercúrio Níquel

* N. de T.: Resina de pinho grego.
** N. de T.: Formulação antiga de mertiolato. No Brasil, hoje o produto é fabricado com clorexidina.

FOTOTOXICOLOGIA

Durante a vida, a pele humana é exposta à radiação na extensão do espectro eletromagnético, incluindo radiação ultravioleta, visível, e infravermelha do sol, fontes de luz artificial e fontes de calor. Em geral, a radiação solar incidente na Terra que é mais efetiva na indução de alterações na pele vai de 290 a 700 nm, o espectro ultravioleta e o visível. Para qualquer forma de radiação eletromagnética produzir uma alteração biológica, primeiro é necessário que ela seja absorvida. A absorção da luz nas estruturas vitais mais profundas da pele é dependente de cromóforos, espessura epidérmica e conteúdo aquoso, que difere em cada região no corpo. Os cromóforos melanina e aminoácidos são capazes de absorver radiação UV-B. Biologicamente, o cromóforo mais significante é o DNA, porque o dano resultante da radiação poderá potencialmente ter efeitos duradouros na estrutura e na função do tecido.

Respostas adversas à radiação eletromagnética

Após a exposição, o efeito agudo mais evidente de exposição à radiação UV é eritema (vermelhidão ou queimadura solar). A dose mínima de eritema (DME), a menor dose de luz UV necessária para induzir resposta eritematosa, varia muito entre as pessoas. A vasodilatação responsável pela alteração de coloração é acompanhada tanto por alteração significante nos mediadores

TABELA 19.4 Substâncias químicas comuns com reatividade cruzada

Substância química	Substância com a qual ocorre reatividade cruzada
Ácido abiético	Resina de pinho (colofônio)
Bálsamo do Peru	Resina de pinho, cinamatos, benzoatos
Bisfenol A	Dietilestilbestrol, hidroquinona, éter monobenzílico
Óleo Canaga*	Salicilato benzílico
Cloro cresol	Cloroxilenol
Diazolidinil ureia	Imidazolidinil ureia, formaldeído
Etilenodiamina di-HCl	Aminofilina, piperazina
Formaldeído	Resina arilsulfonamida, cloreto de cloroalil hexaminio
Hidroquinona	Resorcinol
Metilhidroxibenzoato	Parabenos, monobenzil éter de hidroquinona
Ácido *p*-aminobenzoico	Ácido p-aminosalicílico, sulfonamidas
Fenilenodiamina	Parabenos, ácido *p*-aminobenzoico
Propilhidroxibenzoato	Monobenzil éter de hidroquinona
Fenol	Resorcinol, cresóis, hidroquinona
Dissulfeto de tetrametil thiuram	Monossulfeto e dissulfeto de tetraetil thiuram

*N. de T.: O óleo de Canaga é chamado de falso óleo de Ylang-Ylang.

inflamatórios liberados das células inflamatórias locais quanto por queratinócitos danificados, e pode ser responsável por vários dos sintomas sistêmicos associados com queimadura de sol, como febre, calafrios e mal-estar. O UV-B (290 a 320 nm) é a banda solar mais eficaz para causar eritema na pele humana. As condições ambientais que afetam os danos induzidos por radiação UV incluem a duração da exposição, a estação do ano, a altitude, o local do corpo, a pigmentação da pele e a exposição prévia. Uma dose substancialmente maior de UV-A (320 a 400 nm) incide na Terra, comparada com a UV-B (até 100 vezes maior); todavia, sua eficiência na geração de eritema em seres humanos é cerca de mil vezes menor que a da UV-B. O escurecimento evidente de pigmento é outra resposta típica à exposição UV. Ele pode acontecer por produção expressiva de melanina por melanócitos ou por foto-oxidação de melanina. O bronzeamento ou a pigmentação aumentada costuma ocorrer 3 dias após exposição à luz UV, ao passo que a foto-oxidação tem evidência imediata. A resposta de bronzeamento serve para aumentar o efeito de proteção da melanina na pele. Porém, o escurecimento imediato de pigmento característico da exposição a UV-A e luz visível não confere melhoria na fotoproteção.

Compatível com a melanogênese, a radiação UV irá provocar espessamento da pele principalmente no estrato córneo, e essa resposta confere defesa significante contra dano subsequente por UV. A exposição crônica à radiação induz uma variedade de alterações características da pele que dependem muito do patamar de pigmentação desse órgão de um indivíduo, bem como da duração e do local de exposição. As pessoas de pele mais clara tendem a sofrer de alterações crônicas de pele com mais frequência do que aquelas de pele mais escura, e locais como cabeça, pescoço, mãos e a parte superior do tórax são mais prontamente afetados devido a sua rotina de exposição. Alterações pigmentares – como sardas e áreas hipomelanóticas, rugas, telangiectasias (vasos sanguíneos finos e superficiais), queratose actínica (lesão pré-cancerosa) e lesões malignas da pele, como, por exemplo, carcinoma celular basal e escamoso e melanomas malignos – são consequência de exposição crônica à luz UV. Uma resposta fisiopatológica significativa de exposição crônica à luz UV é a diminuição pronunciada de células de Langerhans epidérmicas, o que pode resultar em vigilância imunológica reduzida de neoantígenos em células malignas, permitindo, assim, que tal transformação prossiga sem combate. A exposição à radiação ionizante pode produzir um variado espectro de doenças, dependendo da intensidade de exposição. Exposições agudas grandes irão resultar em vermelhidão local, bolhas, inchaço, ulceração e dor. Após um período de latência ou depois de exposições crônicas subagudas, alterações características, como espessamento da epiderme, sardas, telangiectasias (capilares dilatados) e ulcerações não curadas, podem ocorrer. Uma variedade de alterações malignas têm também sido descritas após anos de exposição da pele à radiação.

Com exceção da natureza tóxica da radiação eletromagnética, exposições naturais e ambientais a certas bandas de luz são vitais para a sobrevivência. A radiação ultravioleta é fundamental para a conversão de 7-dehidrocolesterol em pró-vitamina D_3, um precursor necessário para a produção endógena normal de vitamina D. A luz azul na faixa de 420 a 490 nm pode provocar a fotoisomeria da bilirrubina (um produto de degradação dos eritrócitos) na pele, ocasionando excreção urinária desse metabólito neurotóxico por crianças com bilirrubina elevada no soro. Além disso, os efeitos tóxicos da luz UV têm sido explorados há décadas por meio de fontes artificiais de luz para tratamento de doenças hiperproliferativas da pele, como psoríase.

Fotossensibilidade

A fotossensibilidade, uma sensibilidade anormal à luz UV e à visível, pode resultar de fatores endógenos e exógenos. Várias doenças genéticas, como o xeroderma pigmentoso e a doença autoimune lúpus eritematoso, prejudicam a capacidade da célula de reparar danos induzidos pela luz UV. Em porfirias hereditárias ou quimicamente induzidas, anormalidades enzimáticas alteram as vias de biossíntese de heme, levando ao acúmulo de precursores de porfirina ou derivados em todo o corpo. Esses compostos em geral fluorescem quando expostos a luz de 400 a 410 nm (banda Soret), e nesse estado excitado interagem com macromoléculas celulares ou com oxigênio celular para gerar radicais livres tóxicos. Hidrocarbonetos aromáticos clorados induzem essa síndrome. Uma sensibilidade "constitucional" à luz (porfiria cutânea tardia) pode ser precipitada por álcool, estrógenos ou certos antibióticos em indivíduos com anormalidades hereditárias na síntese da porfirina, e uma sensibilidade "adquirida", em geral por hexaclorobenzeno e misturas de hidrocarbonetos aromáticos poli-halogenados.

Fototoxicidade As reações fototóxicas por substâncias químicas exógenas podem ser produzidas por administração sistêmica ou tópica ou exposição. Em reações agudas, a pele pode aparecer

TABELA 19.5 Substâncias químicas fototóxicas selecionadas

Furocumarinas*
• 8-metoxipsoraleno
• 5-metoxipsoraleno
• Trimetoxipsoraleno
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
• Antraceno
• Fluoranteno
• Acridina
• Fenantreno
Fármacos
• Tetraciclinas
• Sulfonamidas
• Sulfonilureias
• Ácido nalidíxico
• Tiazidas
• Fenotiazinas
• Anti-inflamatórios não esteroides
Corantes
• Azul disperso 35
• Eosina
• Laranja acridina
Derivados de porfirina
• Hematoporfirina

* N. de T.: Metoxipsoraleno ou metoxaleno – extraído da semente de Ammi majus.

vermelha e com bolhas dentro de minutos a horas após exposição a luz ultravioleta e assemelha-se a uma grave queimadura de sol. As respostas fototóxicas crônicas podem resultar em hiperpigmentação e espessamento das áreas afetadas. O UV-A (320 a 400 nm) é o responsável mais comum; o UV-B (290 a 320 nm) pode estar envolvido ocasionalmente.

Os agentes que costumam estar associados com mais frequência a reações fototóxicas estão listados na Tabela 19.5. Essas substâncias químicas absorvem imediatamente a luz UV e assumem um estado altamente excitado de energia. A reação fotodinâmica dependente de oxigênio é o que mais costuma acontecer tão logo essas moléculas excitadas retornem ao estado fundamental. Aqui, as moléculas excitadas no estado triplete transferem essa energia para o oxigênio ou tornam-se reduzidas e formam outros radicais livres altamente reativos. Esses produtos reativos são capazes de danificar componentes celulares e macromoléculas e causar morte celular. O dano resultante produz uma variedade de mediadores imunes dos queratinócitos e das células brancas que recrutam mais células inflamatórias para a pele e, assim, produz os sinais clínicos de fototoxicidade.

Mecanismos não fotodinâmicos têm sido descritos na patogênese da fototoxicidade, com os psoralenos (furocumarinas) sendo os principais exemplos. Ao penetrar na célula, os psoralenos intercalam-se com o DNA. Uma excitação subsequente com UV-A provoca uma reação fotoquímica que resulta, por fim, em um cicloaduto com ligação covalente entre o psoraleno e as bases de pirimidina. Isso inibe substancialmente a síntese e reparação de DNA, resultando em reações clínicas fototóxicas. Os psoralenos podem ser encontrados no limão e no aipo em concentrações suficientemente altas para causar uma erupção significativa com bolhas, chamada fitofotodermatite. A fototoxicidade induzida por psoralenos pode ser dominada e controlada farmacologicamente. Os psoralenos administrados de forma tópica e oral são usados de modo terapêutico para acentuar os efeitos da liberação controlada de UV-A. O psoraleno em combinação com o UV-A (PUVA) é administrado para controlar doenças hiperproliferativas de queratinócitos e linfócitos, como psoríase, eczema e linfoma cutâneo de célula T.

Fotoalergia Em contraste com a fototoxicidade, a fotoalergia é uma reação de hipersensibilidade retardada tipo IV, levando geralmente a eczema. Por isso, a fotoalergia requer sensibilização prévia à substância química. A indução e a ativação subsequente de reações pode resultar de exposição tópica, como na fotodermatite de contato, ou de fotoalergia sistêmica. Em geral, os mecanismos de dermatite de fotocontato e até mesmo os de fotoalergia sistêmica são os mesmos descritos para dermatite alérgica de contato. Todavia, a luz UV é necessária para converter uma substância química potencialmente sensibilizante em um hapteno que dispara uma resposta alérgica. A fotoalergia geralmente é distinta da fototoxicidade em razão dos resultados iniciais da hipersensibilidade retardada e da necessidade de quantidades de substâncias químicas muito baixas para produzir uma resposta tóxica ainda suficiente para provocar alergia.

O melhor diagnóstico é conseguido pelo teste com *patchs*, com e sem exposição da superfície tratada à luz, para distinguir o fotocontato da alergia de contato. A substância química agressora pode não ser óbvia na história do paciente, em face do tempo decorrido entre a exposição à substância química e à luz do sol e os sintomas. Assim, um conjunto de substâncias químicas testadas pode incluir cerca de 30 fotoalergênicos comuns, além dos produtos de cuidado pessoal e proteção solar do paciente. Para ajudar a prognosticar riscos de fotoalergia, esforços têm sido feitos para deduzir características químicas importantes entre os fotoalergênicos existentes, que expliquem sua reatividade perante proteínas. Essa informação, bem como a avaliação de propriedades físicas como partição entre água e óleo, é antecipada para simplificar o teste de novos produtos.

ACNE

A acne é uma doença pleomórfica com etiologia multifatorial. A influência de sebo, hormônios, bactérias e de fatores genéticos e ambientais é bem conhecida. Em muitas situações, um desses fatores tem uma influência predominantemente maior na lesão do que os outros.

As substâncias químicas *comedogênicas* induzem lesões chamadas de comedão, que podem ser abertas ou fechadas (cravo preto e cravo branco, respectivamente, na língua vernácula). Além disso, pápulas, pústulas, cistos e cicatrizes podem complicar o processo. Os folículos pilosos e as glândulas sebáceas associados ficam obstruídos com queratinócitos compactados que são banhados em sebo. A alteração pigmentar mais evidente em comedões abertos é da melanina.

Cloracne

A cloracne, uma das formas mais desfigurantes da acne em seres humanos, é causada pela exposição a hidrocarbonetos aromáticos poli-halogenados. A cloracne é uma doença relativamente rara, porém sua natureza recalcitrante e a possibilidade de prevenção tornam-na uma doença ocupacional e ambiental

importante. Em geral, comedões e cistos cor de palha aparecem atrás das orelhas, em torno dos olhos e nos ombros, nas costas e na genitália. Além da acne, podem estar presentes hipertricose (aumento de pelos em locais atípicos), hiperpigmentação, descoloração marrom das unhas, conjuntivite e secreções oculares.

DISTÚRBIOS PIGMENTARES

Vários fatores influenciam a pigmentação da pele. A melanina é produzida por uma série de mecanismos enzimáticos que iniciam com tirosina. Erros nesse mecanismo ou exposição a análogos de tirosina podem resultar em pigmentação anormal. A hiperpigmentação resulta do aumento da produção de melanina ou de depósito de pigmentos endógenos ou exógenos na derme superior. A hiperpigmentação exógena pode surgir da deposição de metais e fármacos no tecido dérmico. Em contraste, a hipopigmentação é a perda de pigmentação resultante de perda de melanina, lesão nos melanócitos ou anormalidades vasculares. O leucoderma e a despigmentação denotam completa perda de melanina pela pele, conferindo uma aparência de porcelana branca. A Tabela 19.6 lista substâncias químicas capazes de alterar a pigmentação.

DOENÇA GRANULOMATOSA

Uma variedade de enfermidades dermatológicas produz evidências histopatológicas de inflamação granulomatosa. Em geral, um granuloma é um mecanismo imune para enclausurar uma lesão adversa. É observado na pele em doenças infecciosas (p. ex., lepra e tuberculose), reações a corpos estranhos e doenças idiopáticas. As reações a corpos estranhos podem ser um fenômeno irritante primário ou secundário, tal como introdução de talco, sílica ou madeira na derme. Mais raramente, a sensibilização pode conduzir a uma reação granulomatosa, como no caso do berílio, zircônio, cobalto, mercúrio e cromo, ocorrendo, às vezes, como resposta a tintas de tatuagem.

TABELA 19.6 Causas possíveis de distúrbios pigmentares cutâneos

I. Hiperpigmentação
Exposição à luz ultravioleta
Alterações pós-inflamatórias (deposição de melanina e/ou hemossiderina)
Hipodisfunção das glândulas adrenais
Tumores malignos internos
Exposições químicas
• Compostos voláteis do alcatrão do carvão
• Antraceno
• Ácido pícrico
• Mercúrio
• Chumbo
• Bismuto
• Furocumarinas (psoralenos)
• Hidroquinona (paradoxical)
Fármacos
• Cloroquina
• Amiodarona
• Bleomicina
• Zidovudina (AZT)
• Minociclina
II. Hipopigmentação/despigmentação/leucoderma
Perda pigmentar pós-inflamatória
Vitiligo
Leucoderma químico/hipopigmentação
• Hidroquinona
• Monobenzil, monoetil e monometil éteres de hidroquinona
• *p*-(*t*-butil)fenol
• Mercaptoaminas
• Germicidas fenólicos
• *p*-(*t*-butil)catecóis
• Hidroxitolueno butilado

URTICÁRIA

A urticária representa uma reação de sensibilidade imediata tipo I causada por liberação de histamina e peptídeos vasoativos dos mastócitos. Os liberadores potenciais de histamina dos mastócitos incluem curare, aspirina, corantes com grupo azo,* benzoatos e toxinas de plantas e animais. A grande maioria das respostas com urticária ocorre tanto por ingestão sistêmica de substâncias a que o indivíduo tem alguma alergia específica quanto por mecanismos completamente idiopáticos. A urticária localizada pode ser ativada por certas substâncias na área de contato epicutâneo e é chamada de *urticária de contato*. A Tabela 19.7 descreve algumas causas já relatadas.

Uma síndrome de urticária de contato, rinite, conjuntivite, asma e raramente anafilaxia e morte tem sido associada com as proteínas do látex encontradas na borracha. Os alérgenos na borracha do látex natural são proteínas solúveis em água não completamente caracterizadas que são capazes de induzir respostas alérgicas do tipo I em indivíduos sensibilizados. O contato com produtos de borracha, como luvas, pode causar urticária somente na área de contato com a pele, porém indivíduos mais alérgicos podem apresentar urticária generalizada, asma, anafilaxia e morte. Os fatores de risco que têm sido elucidados em estudos epidemiológicos incluem história de eczema, febre do feno ou asma, espinha bífida, história de dermatite nas mãos e gênero feminino.

NECRÓLISE EPIDÉRMICA TÓXICA

A necrólise epidérmica tóxica (NET) representa uma das doenças dermatológicas causada por fármacos e substâncias químicas com maior ameaça à vida. Uma necrose espessa da epiderme é seguida por um descolamento completo de grande superfície desse material necrótico. Após a perda da epiderme, só a derme permanece, comprometendo de forma grave, dessa maneira, a homeostase térmica, fluida e eletrolítica. Indivíduos com NET induzida por carbamazepina têm capacidade linfocitária reduzida para metabolizar os intermediários citotóxicos da substância. Anormalidades na epóxido hidrolase e na glutationa transferase podem ser responsáveis pelo metabolismo do suposto toxicante, que pode ser um óxido de areno. **Imagina-se que a reação inflamatória dos linfócitos CD8 e o papel dos metabólitos do óxido nítrico sejam mediadores da necrose epidérmica na NET.

* N. de T.: Grupamento cromóforo caracterizado pela ligação N=N.

** N. de T.: Metabólito intermediário da hidroxilação de fármacos com unidades aromáticas.

TABELA 19.7 Algumas substâncias relatadas como ativadoras de urticária de contato

Substâncias químicas	Alimentos
Anidridos • Metilhexahidroftálicos • Hexahidroftálicos • Maleico	Víscera animal • Maçã • Alcachofra • Aspargo
Antibióticos • Bacitracina • Estreptomicina • Cefalosporinas • Penicilina • Rifamicina	Bife Cerveja Cenoura Frango Veado Ovo
Ácido benzoico	Peixe
Cloreto de cobalto	Cordeiro
Butilhidroxianisol (BHA)	Mostarda
Butilhidroxitolueno (BHT)	Páprica
Carboximetilcelulose	Batata
Ciclopentolato HCl	Carne de porco
Difenilguanidina	Arroz
Resina epóxi	Morango
Formaldeído	Peru
Fragrâncias • Bálsamo do Peru • Aldeído cinâmico	
Isocianatos • Difenilmetano-4,4-diisocianato	
Mentol	
Plantas, madeiras, árvores e sementes • Látex	
Acetato fenilmercúrico	
Xileno	

CÂNCER DE PELE

Radiação

O câncer de pele é o neoplasma mais comum em seres humanos. Hoje, a principal causa de câncer de pele é a luz do sol, que danifica o DNA das células epidérmicas. A radiação UV-B (290 a 320 nm) induz a formação de dímeros de pirimidina, ativando, assim, mutações em genes importantes. O gene supressor de tumor p53 tem sido apontado em quase todos os carcinomas celulares escamosos. Devido ao fato de a proteína p53 interromper o ciclo celular até que o dano ao DNA seja reparado e possa produzir apoptose, sua perda desestabiliza o genoma das células jovens e dá a elas maior poder de crescimento. A luz UV tem efeitos imunossupressores que podem favorecer a sobrevivência dos tumores de pele. A incidência do câncer de pele é mais alta em trópicos e em indivíduos de pele clara. Mesmo quando não causa câncer em indivíduos normais, a exposição ao sol leva ao envelhecimento prematuro da pele. Por essa razão, o bronzeamento solar é desestimulado, e o uso de loções com fator de proteção solar é recomendado.

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

As substâncias ricas em hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (carvão de alcatrão, creosoto, piche e fuligem) são carcinogênicas para a pele em seres humanos e em animais. A biotransformação oxidativa de compostos aromáticos policíclicos produz epóxidos eletrofílicos que podem formar aductos de DNA. Os fenóis, produzidos por arranjos dos epóxidos, podem ser oxidados novamente a quinonas, produzindo espécies reativas de oxigênio que também são eletrófilos tóxicos. Trabalhos com risco ocupacional de câncer de pele pela exposição a esses compostos (p. ex., construir telhados) quase sempre envolvem considerável exposição à luz do sol, um fator adicional de risco.

Promoção de tumor de pele em camundongos

A pele de camundongos tem sido utilizada como um alvo importante para testes de carcinogenicidade. A incidência observada de carcinomas celulares escamosos em pele de camundongos é interpretada como evidência de risco carcinogênico geral em seres humanos. Muito se tem aprendido acerca da patogênese de carcinoma celular escamoso em pele de camundongos, tendo efetiva aplicabilidade geral a carcinomas celulares escamosos em seres humanos. Uma vantagem do modelo da carcinogênese em pele de camundongo é a habilidade para separar o processo neoplásico em estágios de iniciação, promoção e progressão, dependendo do delineamento experimental.

Arsênico

Altas exposições nas operações de fundição e a águas de poços derivados de estratos rochosos com alto teor de arsênico são associadas com queratose arsenical (lesões pré-malignas), doença do pé preto (um distúrbio circulatório que reflete dano das células endoteliais), carcinoma celular escamoso da pele e de vários outros órgãos (bexiga, pulmão e fígado). O ânion arsenito (arsênico no estado de oxidação +3) combina-se avidamente com os tióis vicinais, e imagina-se que isso inibe o reparo do DNA celular, ao passo que o ânion arsenato (arsênico no estado de oxidação +5) pode substituir o fosfato em macromoléculas como o DNA, mas os ésteres resultantes são instáveis. O arsênico pode alterar também a metilação do DNA, suprimir os marcadores de diferenciação dos queratinócitos e acentuar a secreção do fator de crescimento na epiderme. A metilação tem sido considerada o método mais provável de detoxificação, porque o mono e o dimetil arsenato observados isolados da urina de seres humanos e animais expostos são certamente muito menos tóxicos.

REFERÊNCIAS

Chilcott RP, Price S (eds): *Principles and Practice of Skin Toxicology*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2008.

Marzulli FN, Zhai H, Maibach HI, Wilhelm KP: *Marzulli and Maibach's Dermatotoxicology*. Boca Raton: CRC Press, 2008.

Riviere JE (ed): *Dermal Absorption Models in Toxicology and Pharmacology*. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes declarações é FALSA com relação à histologia da pele?
   a. O suprimento sanguíneo da epiderme tem origem na junção epiderme-derme.
   b. A melanina é produzida e armazenada pelos melanócitos.
   c. O estrato córneo é composto por células inviáveis.
   d. As células levam aproximadamente 2 semanas para se desprender do estrato córneo.
   e. As células-tronco da camada basal repõem os queratinócitos das camadas da epiderme.

2. A liberação transdérmica de fármacos NÃO:
   a. Previne a exposição dos medicamentos a baixo pH.
   b. Evita metabolismo de primeira passagem.
   c. Proporciona infusão contínua durante um período prolongado de tempo.
   d. Evita grande variação da concentração do medicamento no plasma.
   e. Aumenta a segurança da liberação do medicamento.

3. As dermatites irritante e de contato são marcadas por todas as características a seguir, com EXCEÇÃO de:
   a. Suavidade
   b. Eritema
   c. Descamação
   d. Endurecimento
   e. Formação de bolhas

4. O níquel é uma causa comum da dermatite alérgica de contato, que é uma reação de hipersensibilidade de qual tipo?
   a. Tipo I
   b. Tipo II
   c. Tipo III
   d. Tipo IV
   e. Tipo V

5. As seguintes declarações a respeito da fototoxicologia são verdadeiras, com EXCEÇÃO de:
   a. A melanina é responsável principalmente pela absorção da radiação UV-B.
   b. A radiação UV-A é a mais eficaz para causar queimaduras solares em seres humanos.
   c. A liberação de IL-1 é responsável pelos sintomas sistêmicos associados com queimaduras solares.
   d. O escurecimento da melanina é uma resposta comum à exposição à radiação UV.
   e. A exposição à radiação UV causa espessamento do estrato córneo.

6. As fotoalergias:
   a. Representam uma reação de hipersensibilidade do tipo III.
   b. Podem ocorrer sem exposição à radiação UV.
   c. São mediadas por haptenos.
   d. Não podem ser testadas como as dermatites alérgicas de contato
   e. Ocorrem sempre na primeira exposição.

7. A difusão através da epiderme ocorreria mais lentamente através da pele em qual dos seguintes locais?
   a. Palma da mão
   b. Testa
   c. Escroto
   d. Sola do pé
   e. Abdome

8. Qual das seguintes declarações com relação à fotossensibilidade é FALSA?
   a. As porfirias causam sensibilidade à luz devido à falta de síntese de heme.
   b. Os pacientes com lúpus são incapazes de sanar o dano causado pela luz UV.
   c. A resposta fototóxica crônica resulta frequentemente em hiperpigmentação.
   d. A fotoalergia representa uma reação de hipersensibilidade do tipo IV.
   e. A radiação UV causa ciclo aductos entre bases de pirimidina.

9. A acne é causada por todas as causas a seguir, EXCETO:
   a. Glândulas sebáceas entupidas
   b. Hormônios
   c. Vírus
   d. Genética
   e. Fatores ambientais

10. Todas as seguintes declarações relacionadas à urticária são verdadeiras, EXCETO:
   a. A urticária é uma reação de hipersensibilidade do tipo retardada.
   b. As urticárias são mediadas parcialmente pela liberação de histamina dos mastócitos.
   c. O látex é uma causa química comum de urticária.
   d. Alguns alimentos têm sido apontados como causadores de urticária de contato.
   e. A urticária é mediada por anticorpos IgE.

CAPÍTULO

20

Efeitos Tóxicos Sobre o Sistema Reprodutivo

Paul M.D. Foster e L. Earl Gray Jr.

INTRODUÇÃO

O CICLO REPRODUTIVO

DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO E DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

GAMETOGÊNESE

DESENVOLVIMENTO NEONATAL

DESENVOLVIMENTO INFANTIL

DESENVOLVIMENTO PUBERAL

- **Modelos puberais em roedores**

MATURIDADE SEXUAL

- **Eixo hipotálamo-hipófise-gonadal**
- **Função ovariana**
  - Oogenêse
  - Estudo de caso: busulfan
- **Ciclo ovariano**

ESTRUTURA E FUNÇÃO TESTICULAR

- **Alvos da toxicidade**
- **Estrutura testicular e espermatogênese**
- **Processos pós-testiculares**
- **Ereção e ejaculação**
- **Estudos de caso dos efeitos tóxicos em machos**
  - *m*-Dinitrobenzeno
  - Etilenoglicol monometil éter (EGME)

GESTAÇÃO

SENESCÊNCIA

DISRUPÇÃO ENDÓCRINA

- **Efeitos conhecidos dos EDCs em humanos e em animais**
  - Diferenciação sexual humana
  - Efeitos conhecidos de produtos de plantas ou de fungos em animais e em humanos
  - Efeitos conhecidos de compostos organoclorados em humanos
  - Exposições ocupacionais
- **Andrógenos ambientais**
- **Antiandrógenos ambientais**
  - Fungicidas
  - Linuron (herbicida)
  - Ftalatos (plastificantes)
- **Estrógenos ambientais**
- ***Screening* para EDC**
  - Ensaios em mamíferos *in vivo*

TESTES PARA TOXICIDADE REPRODUTIVA

- ***Screens* e estudos de multigeração**
- **Testes para disruptores endócrinos químicos**
- **Testes para produtos farmacêuticos**

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE À REPRODUÇÃO

PONTOS-CHAVE

- As gônadas desempenham função dupla: uma função endócrina, que envolve a secreção dos hormônios sexuais, e uma função não endócrina, relacionada à produção das células germinativas (gametogênese).
- As funções gametogênica e secretora dos ovários e testículos são dependentes das secreções dos hormônios folículo-estimulante (FSH) e luteinizante (LH) pela hipófise.
- A barreira sangue-testículo entre o lúmen de um capilar intersticial e o lúmen de um túbulo seminífero impede ou previne a troca de agentes químicos/medicamentos entre o sangue e o fluido presente no interior dos túbulos seminíferos.
- Xenobióticos podem atuar diretamente no hipotálamo e na adeno-hipófise, provocando alterações na secreção de hormônios liberados pelo hipotálamo e/ou das gonadotrofinas.
- A biossíntese de hormônios esteroidais pode ocorrer em vários órgãos endócrinos, incluindo o córtex adrenal, o ovário e os testículos.
- Os processos reprodutivos femininos de oogênese ou ovogênese, ovulação e desenvolvimento da receptividade sexual, coito, transporte de gametas e zigoto, fertilização e implantação do concepto podem ser sítios de interferência de xenobióticos.
- Xenobióticos podem influenciar a estrutura do órgão reprodutor masculino, a espermatogênese, a secreção de hormônios androgênicos e funções dos órgãos acessórios.

INTRODUÇÃO

Os agentes químicos afetam a reprodução tanto em homens como em mulheres. Estudos recentes sobre a fertilidade humana revelam um potencial de redução da fertilidade humana, além de sugerir que as exposições a agentes químicos ambientais e a medicamentos podem contribuir para esse efeito. O ciclo reprodutivo está ilustrado na Figura 20.1.

O CICLO REPRODUTIVO

Inúmeros processos complexos são orquestrados em uma ordem precisa e sequencial para que os diferentes estágios do ciclo da vida de humanos e animais aconteçam de maneira adequada. Após a fertilização de um óvulo pelo espermatozoide, o zigoto resultante é transportado pelo oviduto durante o processo de maturação para a fase embrionária. O embrião é, então, implantado no útero, sofre diferenciação, e a placenta é produzida para a embriogênese e o desenvolvimento fetal.

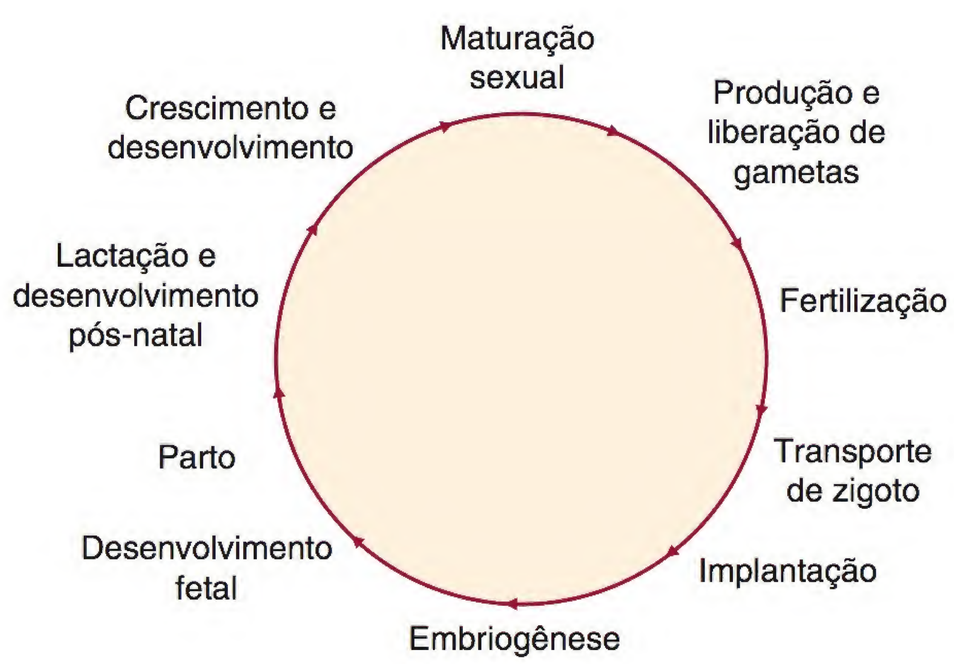


FIGURA 20.1 O ciclo reprodutivo.

A aquisição da maturidade sexual envolve a geração de gametas pelas gônadas. O ciclo reprodutivo em animais tem vida média, e, após seu término, o processo de reprodução entra em senescência. Esses processos compreendem uma relação complexa entre células e tecidos, sob constante controle hormonal que fornece sinalizações específicas, com precisão temporal. Todos esses processos podem ser alvos de ação de agentes específicos que acarretam efeitos adversos na reprodução, a ponto de a produção normal de um feto viável poder não ocorrer.

DESENVOLVIMENTO REPRODUTIVO E DIFERENCIAÇÃO SEXUAL

Durante a 7ª semana da gestação humana, as características morfológicas entre masculino e feminino começam a se desenvolver. A diferenciação gonadal depende de sinais do cromossomo Y, que contém os genes necessários para induzir a morfogênese testicular. Um desses sinais é o gene SRY, que consiste na região determinante do sexo no braço curto do cromossomo Y e atua como um comando para iniciar a transcrição de outros genes que contribuem para a organogênese testicular. Na ausência da proteína SRY, as gônadas permanecem indiferenciadas por um período de tempo curto, antes de diferenciarem-se em ovários.

As células intersticiais de Leydig produzem o hormônio sexual masculino testosterona, que induz a diferenciação masculina do ducto de Wolffian e a genitália externa. A Figura 20.2 fornece a representação diagramática da diferenciação do sexo masculino humano. Em roedores e em humanos, a produção de andrógenos pelos testículos fetais é necessária para o próprio desenvolvimento do testículo, para a completa diferenciação sexual masculina e diferenciação dos ductos de Wolffian para epidídimos, vasos deferentes e vesículas seminais.

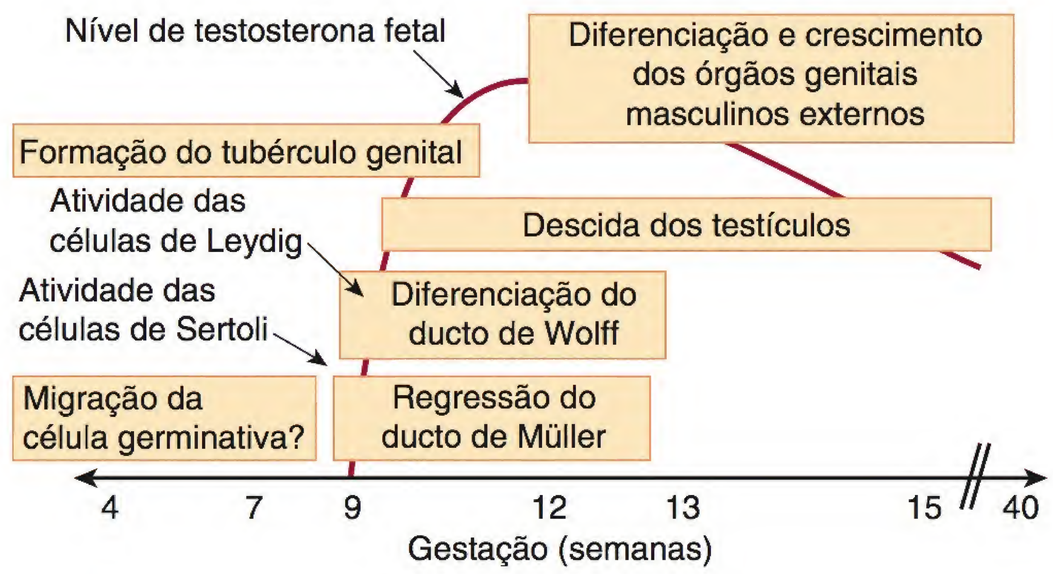


FIGURA 20.2 Diferenciação sexual masculina durante a gestação humana. (Reprodução autorizada por Klonisch T, Fowler PA, Hombach-Klonisch S: Molecular and genetic regulation of testis descent and external genitalia development. *Dev. Biol* 270:1-18, 2004. Elsevier Science.)

Os andrógenos derivados das células de Leydig estimulam o ducto mesonéfrico (ou Wolff) para formar os ductos genitais masculinos, enquanto as células de Sertoli produzem a substância inibidora Müllerian (ou hormônio anti-Mülleriano), que suprime o desenvolvimento dos ductos paramesonéfricos (müllerianos), ou nos ductos genitais femininos.

Em humanos, as genitálias externas são indistinguíveis até a 9ª semana e passam a ser completamente diferenciadas após a 12ª semana da gestação. O desenvolvimento da genitália externa coincide com a diferenciação gonadal. Os andrógenos testiculares no feto são responsáveis pela indução da masculinização da genitália externa andrógena. Então, no homem, mas não na mulher, o desenvolvimento do sistema reprodutivo é integralmente hormônio-dependente e hereditariamente mais suscetível a disruptores endócrinos.

GAMETOGÊNESE

O oócito de mamíferos (Fig. 20.3) começa em meiose durante o desenvolvimento fetal, fica estacionado em meiose I e não completa a primeira divisão até a ovulação; a segunda divisão é completada somente se o óvulo é fertilizado. Nos homens, a meiose começa na puberdade e é um processo contínuo, com a progressão dos espermatócitos da prófase à segunda divisão meiótica em pouco mais de 1 semana. Essa diferença tem implicações relevantes para a ação de xenobióticos e para os períodos críticos nos quais essas células podem ser vulneráveis à ação lesiva.

DESENVOLVIMENTO NEONATAL

Na fase final da gestação e no nascimento, ratos machos apresentam distância angiogenital (AGD) mais longa do que fêmeas, sendo que a AGD em machos é duas vezes mais longa do que em fêmeas. Diferenças homólogas são encontradas em humanos. Em muitas espécies de mamíferos, incluindo humanos e ratos, os machos apresentam perfil mais agressivo do que as fêmeas. Ambos, AGD e comportamento, podem ser alterados pela exposição a hormônios ou anti-hormônios.

DESENVOLVIMENTO INFANTIL

Durante a infância ocorre o aparecimento dos botões do mamilo e da aréola em fêmeas, bem como a maturação do eixo hipotálamo-hipófise. O aparecimento dos botões do mamilo é prevenido em machos pela atrofia do mamilo anlage induzido pelo andrógeno pré-natal. Fêmeas tratadas com andrógenos no período pré-natal podem apresentar malformações no sistema reprodutivo (tecidos masculinos retidos ou agenesia vaginal).

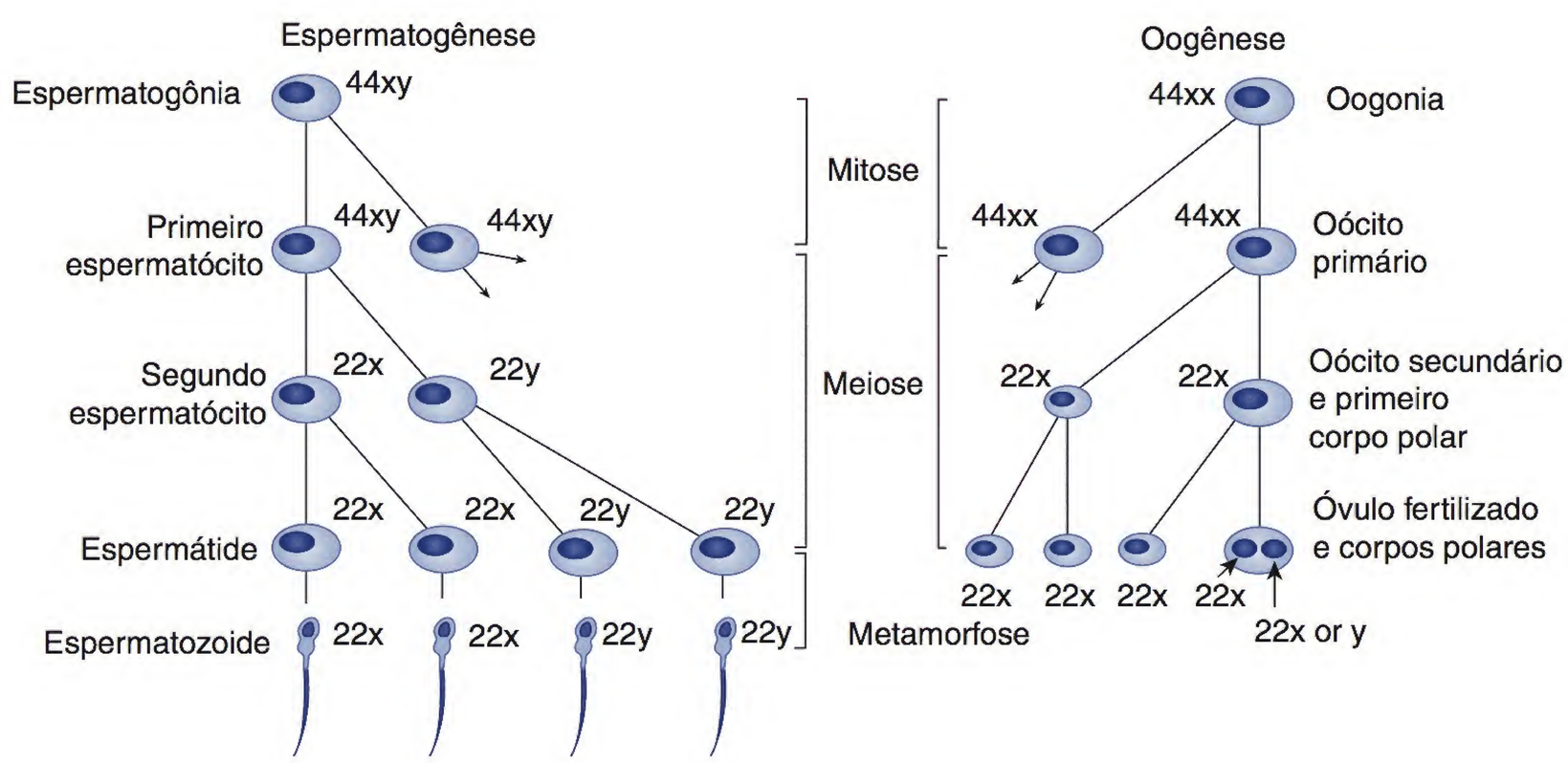


FIGURA 20.3 Replicação celular (mitose) e divisões celulares redutivas (meiose) envolvidas na espermatogênese, oogênese e fertilização.

DESENVOLVIMENTO PUBERAL

A puberdade tem início com a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gonadal (HPG) e hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA) (ver Fig. 20.4). No início, o HPG libera pulsos do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH), com frequências e amplitudes crescentes que induzem secreções pulsáteis dos hormônios luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH) da hipófise. O LH e o FSH estimulam as gônadas, induzindo a gonadarca, caracterizada pelo início da produção dos hormônios gonadais. Nas fêmeas, a secreção de andrógenos, pelas células da teca, e estradiol, pelas células granulosas dos folículos maduros, que antecede a ovulação, é seguida pela secreção de progesterona do corpo lúteo após a ovulação. Em machos, o LH estimula a síntese e a secreção de andrógenos e hormônio peptídeo 3 tipo-insulina pelas células de Leydig.

Telarca e adrenarca prematuras são frequentemente associadas à puberdade pseudoprecoce, quando um espectro pleno de alterações puberais não ocorre. A telarca prematura em meninas e a ginecomastia em meninos são resultantes da exposição direta a estrógenos provenientes de produtos naturais ou empregados em cuidados pessoais. As consequências não desejadas podem ocorrer em condições de exposição prolongada, incluindo baixa estatura, devido aos efeitos dos estrógenos nas placas de crescimento dos ossos longos, e comportamentos sociais/sexuais inapropriados para a idade cronológica da criança. Além disso, tem-se evidenciado que a telarca prematura pode aumentar a probabilidade de desenvolvimento de doenças, como câncer de mama e endometriose.

A associação de alterações puberais à exposição ambiental a compostos orgânicos halogenados persistentes, tais como bifenilas policloradas (PCBs), retardadores de chama bromados, dioxina, hexaclorobenzeno, endosulfan e metais pesados, tem sido estudada, mas não há, ainda, consenso sobre o papel desses agentes químicos em alterações puberais.

Modelos puberais em roedores

Roedores são modelos animais importantes no estudo dos efeitos dos xenobióticos durante a puberdade. Em ratos de laboratório, os parâmetros padrões indicadores de puberdade são a idade de separação do prepúcio (PPS), a idade da abertura vaginal (VO) e o primeiro ciclo estral.

Os parâmetros de início da puberdade em ratos podem ser alterados após a exposição aguda a 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina (TCDD), busulfan, andrógenos e disruptores endócrinos (EDCs) durante a gestação e/ou lactação. Ainda, esses parâmetros também podem ser retardados após exposições a agentes químicos antiandrogênicos na fase peri-puerperal. Da puberdade até a idade adulta, as glândulas acessórias sexuais e outros tecidos dependentes de andrógenos (i.e., músculos e sistema nervoso) continuam a depender de testosterona ou de 5-α-diidrotestosterona para maturação e manutenção da função.

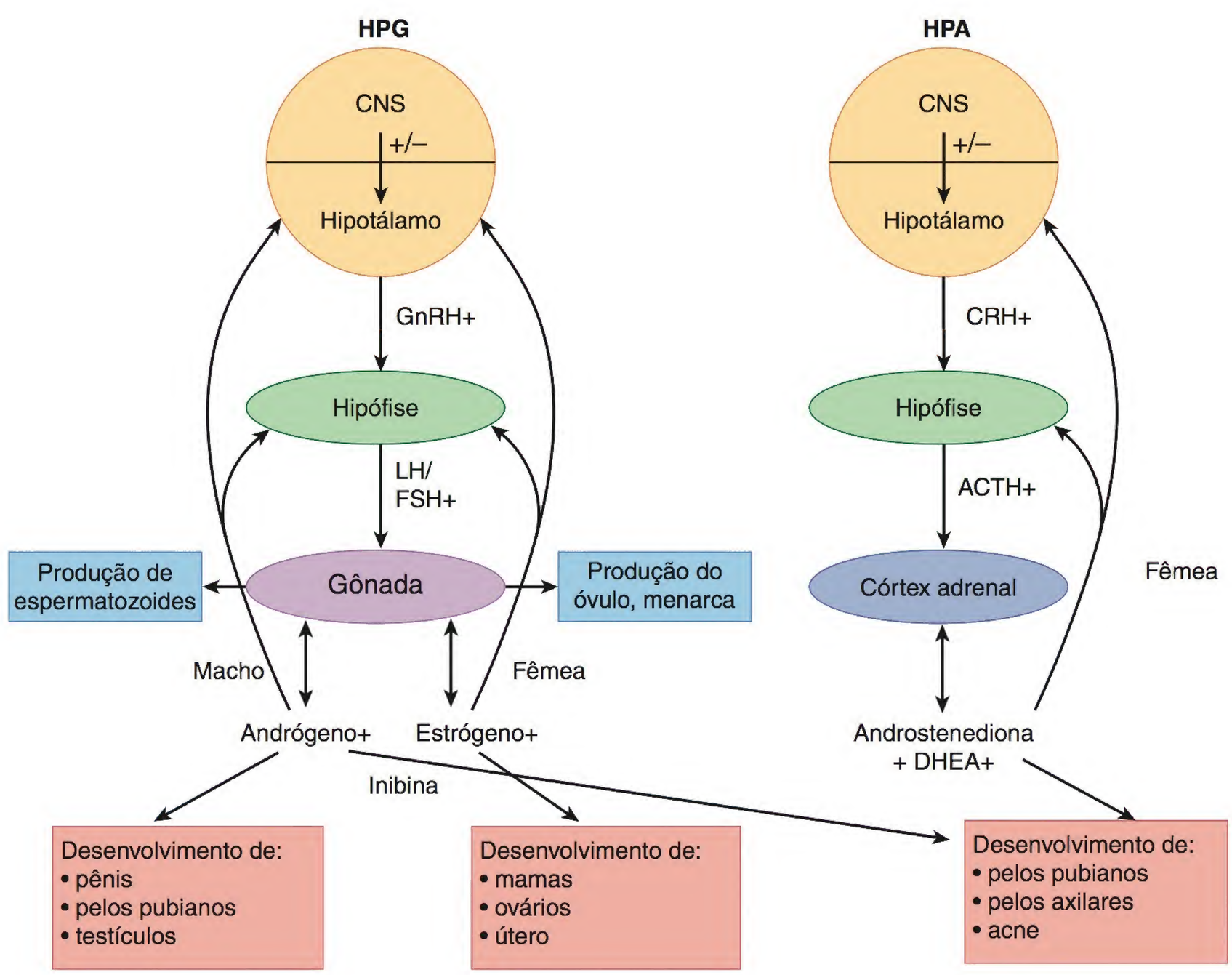


FIGURA 20.4 Controle endócrino da puberdade em machos e em fêmeas.

MATURIDADE SEXUAL

Eixo hipotálamo-hipófise-gonadal

O FSH e o LH são glicoproteínas sintetizadas e liberadas da hipófise. Neurônios neuroendócrinos hipotalâmicos secretam fatores secretores ou inibidores da secreção para o sistema porta hipofisial, que os drena para a adeno-hipófise, onde eles estimulam ou inibem a secreção de hormônios da hipófise anterior. O GnRH atua nas células gonadotrópicas, estimulando a secreção de FSH e LH.

Os neurônios neuroendócrinos dispõem de terminações nervosas que contêm monoaminas, como noradrenalina, dopamina e serotonina. Reserpina, clorpromazina e inibidores da monoaminoxidase (MAO) modificam o conteúdo ou as ações das monoaminas no cérebro que afetam a produção de gonadotrofinas.

Em fêmeas (Fig. 20.5), o LH atua sobre as células da teca do ovário para induzir a esteroidogênese, particularmente a produção de progesterona e andrógenos que são transferidos para as células da granulosa que podem ser estimuladas pelo FSH para produzir estradiol. Esses esteroides funcionam como retroalimentadores negativos no hipotálamo e na hipófise para regular a produção de gonadotrofinas.

Da mesma forma, em machos (Fig. 20.6), o FSH atua principalmente nas células de Sertoli, além de estimular a mitose na espermatogônia. O LH estimula a esteroidogênese nas células intersticiais de Leydig. Um defeito na função dos testículos (na produção de espermatozoides ou de testosterona) poderá refletir em níveis aumentados de FSH ou LH no soro, por falta de retroalimentação negativa dos hormônios testiculares.

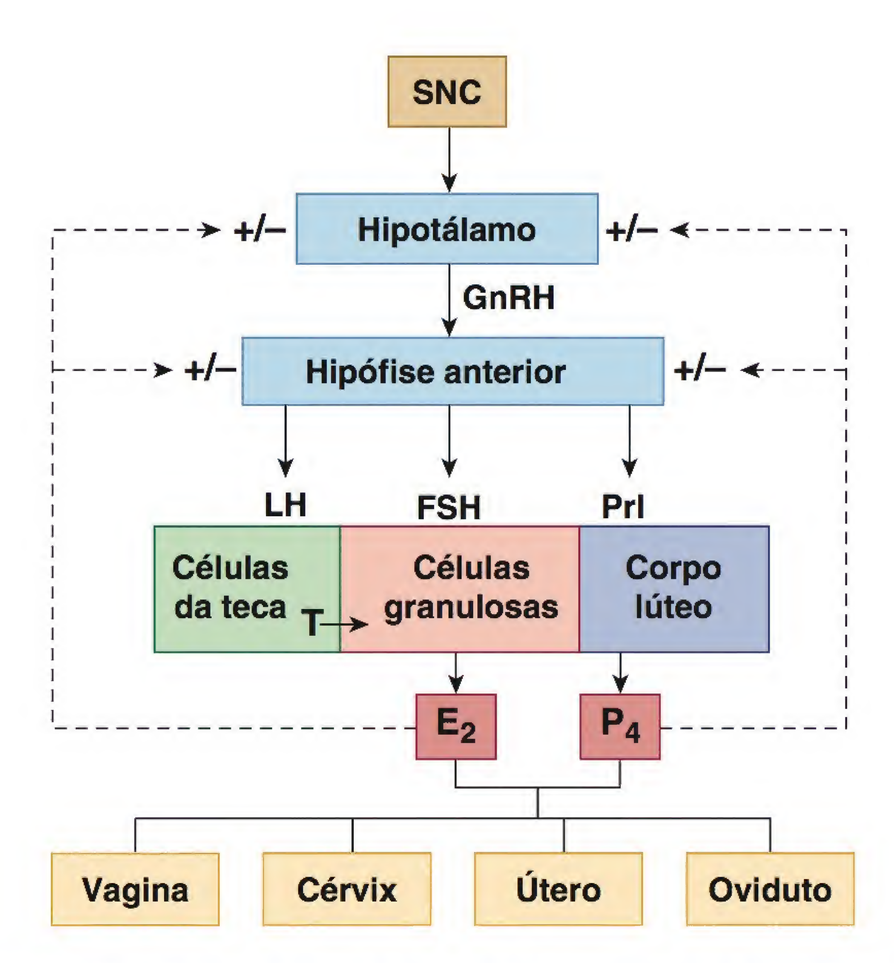


FIGURA 20.5 Controle endócrino do ciclo reprodutor feminino. SNC = sistema nervoso central; GnRH = hormônio liberador de gonadotrofina; LH = hormônio luteinizante; FSH = hormônio folículo-estimulante; Prl = prolactina; T = testosterona; E2 = estradiol; P4 = progesterona.

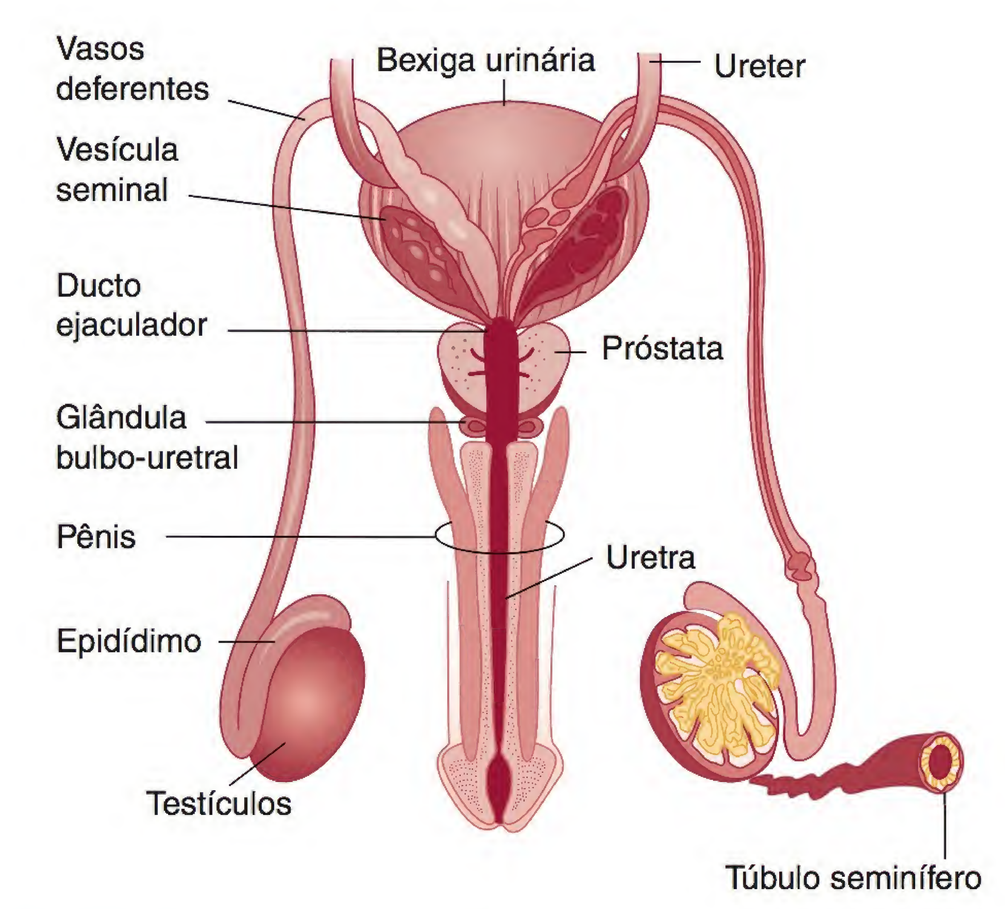


FIGURA 20.6 Sistema reprodutor masculino.

A retroalimentação no eixo HPG é um processo sensível, modulado pelos hormônios. Xenobióticos que alteram a biotransformação dos esteroides sexuais endógenos pelo fígado e/ou pelos rins podem afetar o sistema de retroalimentação da hipófise.

Função ovariana

Oogênese Cerca de 400 mil folículos estão presentes no ovário humano ao nascimento. Depois, muitos evoluem para atresia, e os que sobrevivem reduzem em número constantemente. Um agente químico que danifica os oócitos irá acelerar a depleção do estoque de folículos e pode provocar redução da fertilidade. Aproximadamente metade do número de oócitos presente no nascimento permanece na puberdade; o número é reduzido para cerca de 25 mil por volta dos 30 anos de idade. Em torno de 400 folículos primários irão maturar ao óvulo durante a vida reprodutiva da mulher. Durante aproximadamente 3 décadas de fertilidade, são encontrados folículos em vários estágios de crescimento. Após a menopausa, os folículos não são mais encontrados no ovário.

Apesar de o peso ovariano não oscilar durante o ciclo hormonal, seu peso e sua histologia podem fornecer informações úteis sobre os efeitos de xenobióticos no sistema reprodutivo. O peso dos ovários pode ser reduzido pela depleção de oócitos ou ruptura do eixo HPG. Xenobióticos podem causar várias lesões nos ovários, incluindo folículos poliovulares, depleção dos oócitos, hiperplasia das células intersticiais, corpo *albicans* e ausência de corpo lúteo.

Estudo de caso: busulfan O busulfan é um agente alquilante usado para tratar doenças humanas graves, incluindo leucemia mieloide crônica, certas doenças mieloproliferativas, como trombocitose severa, e policitemia vera. Ele causa falência ovariana e previne ou atrasa o início da puberdade em meninas.

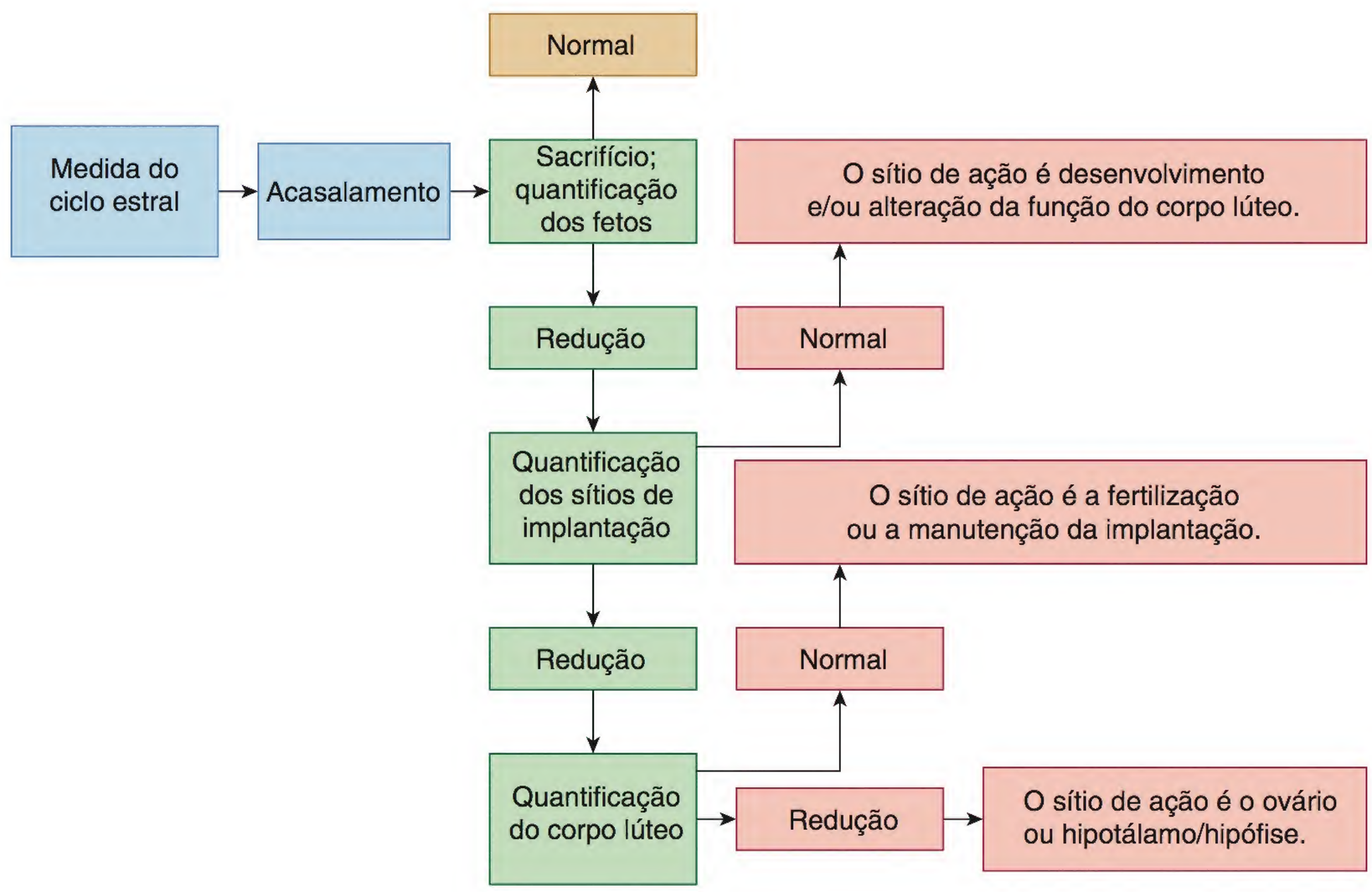


FIGURA 20.7 Sítios de ação de xenobióticos no sistema reprodutor feminino.

Em roedores, a administração de busulfan inibe especificamente o desenvolvimento das células germinativas. O feto apresenta alterações permanentes no sistema reprodutor e no sistema nervoso central. As fêmeas que são afetadas de modo mais grave não apresentam ciclos estrais ou comportamento sexual espontâneo. Mesmo que as gônadas de ambos os sexos sejam afetadas com a mesma concentração de busulfan, a fertilidade e a produção de hormônios gonadais são interrompidas mais facilmente nos fetos fêmeas do que nos machos, porque as células produtoras de esteroides no ovário não se diferenciam na ausência dos óocitos. A representação esquemática dos sítios de ação dos xenobióticos no sistema reprodutor das fêmeas está apresentada na Figura 20.7.

Ciclo ovariano

A liberação cíclica das gonadotrofinas da hipófise envolvendo a secreção de progesterona e de estrógenos ovarianos está ilustrada na Figura 20.8. Esses esteroides sexuais femininos determinam a ovulação e preparam os órgãos sexuais acessórios das fêmeas para receberem o esperma. Esse eixo pode ser interrompido, resultando em infertilidade em qualquer nível do sistema endócrino. Por exemplo, agentes químicos que bloqueiam o pulso de LH temporariamente podem inibir ou atrasar a ovulação, resultando em infertilidade ou baixa fecundidade devido ao atraso na fertilização do óvulo.

ESTRUTURA E FUNÇÃO TESTICULAR

A barreira sangue-testículos entre o lúmen de um vaso capilar intersticial e o lúmen de um túbulo seminífero impede ou previne a troca livre de agentes químicos entre o sangue e os fluidos dos túbulos seminíferos.

Alvos da toxicidade

Para um macho adulto, existem vários alvos em potencial para a ação de agentes químicos no sistema reprodutor (Fig. 20.9). Análogos da dopamina e estrógenos interferem na produção e liberação de gonadotrofina, afetando, assim, a espermatogênese. Além disso, a alteração no fornecimento de nutrientes pode acarretar efeitos diretos na espermatogênese e problemas subsequentes na fertilidade. Da mesma forma, agentes químicos que afetem diretamente o fígado (p. ex., CCl_4) podem alterar o metabolismo normal dos esteroides sexuais, provocando modificações na depuração (predominantemente de conjugados com ácido glucurônico e com sulfatos de hidroxitestosterona), afetando indiretamente o eixo HPG e a reprodução masculina.

Os testículos de mamíferos apresentam um sistema circulatório adaptado, denominado *plexo pampiniforme*, que compreende um desvio da circulação sanguínea arteriovenosa que auxilia no resfriamento da bolsa escrotal. Alguns agentes químicos (p. ex., cádmio) podem afetar essa estrutura e o sistema circulatório testicular e induzir choque isquêmico, que resulta em lesão tecidual e prejuízos na fertilidade.

Estrutura testicular e espermatogênese

A espermatogênese no rato é um processo extremamente ordenado. A espermatogônia tem populações que atuam como células precursoras para os túbulos seminíferos, e uma proporção dessas células sofre divisões mitóticas para aumentar seus números e migra para a prófase meiótica e, então, transforma-se

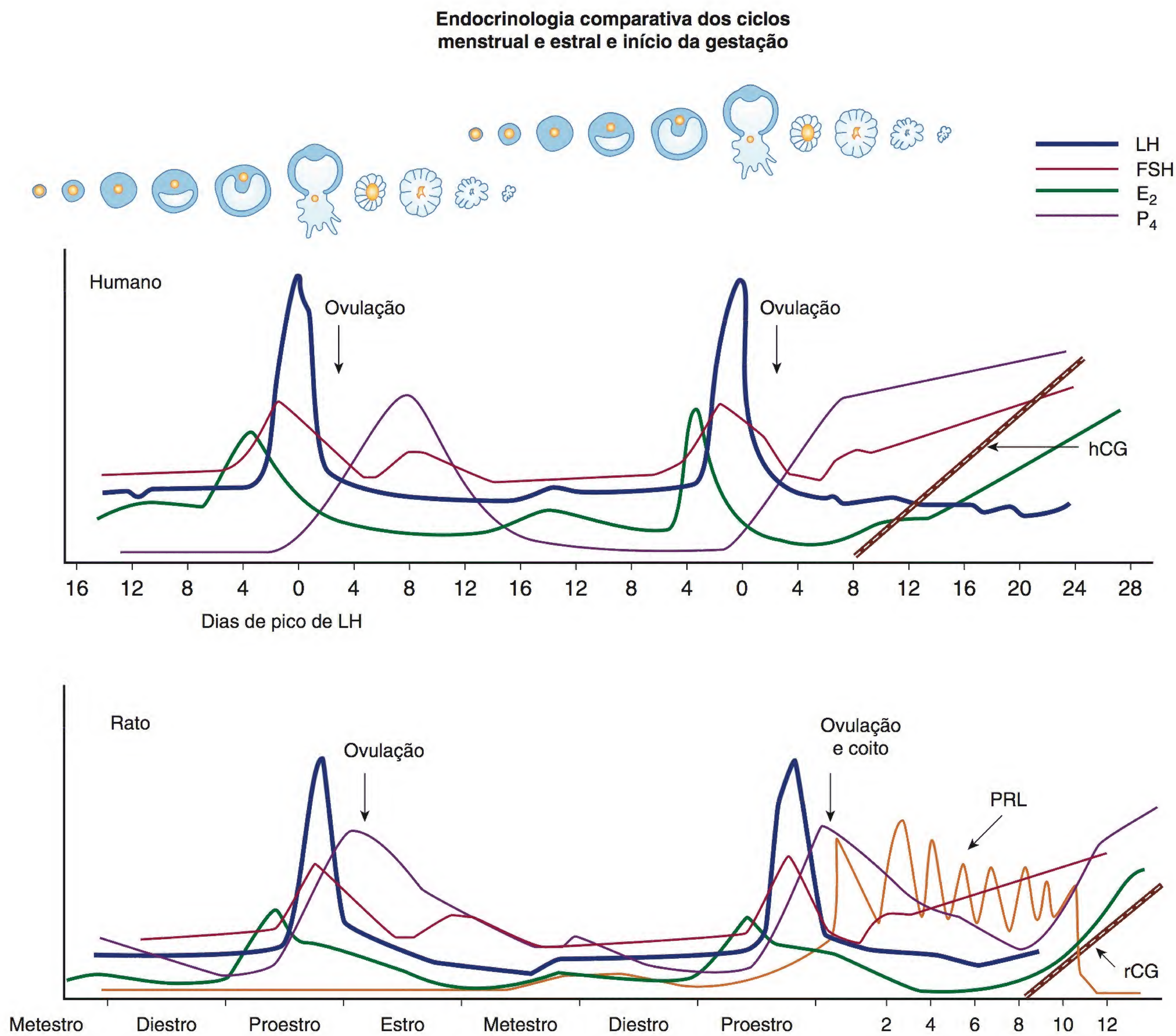


FIGURA 20.8 Comparação entre o período dos ciclos de ratos e de humanos.

em espermatozoides, que são liberados para o lúmen do túbulo seminífero.

Uma diversidade de processos bioquímicos ocorre nos diferentes estágios da espermatogênese, compreendendo alvos para diferentes mecanismos de ação de agentes químicos, os quais produzem lesões estágio-específicas. Tais ações acontecem com frequência com alguns ésteres ftalatos, éteres glicólicos e agentes antiandrogênicos.

O processo de liberação do esperma para o lúmen dos túbulos seminíferos, bem como seu caminho para o epidídimo, são alvos de ação de xenobióticos. Açúcares clorados e epicloridrina inibem o metabolismo energético no esperma, prevenindo sua funcionalidade adequada. O número de agentes químicos presentes no meio ambiente que produz reações adversas em homens não é extenso. A maioria desses agentes exerce efeitos em roedores, especialmente em ratos; no entanto, há diferenças significativas nas sensibilidades, com base nas doses de exposição.

Processos pós-testiculares

Durante o movimento pelo túbulo epididimal, o fluido é removido por transporte ativo. Esse estágio do processo é alvo de ação de xenobióticos, resultando em um ambiente inapropriado para o desenvolvimento do esperma.

Ereção e ejaculação

Pouco é conhecido sobre os efeitos de agentes químicos no processo de ereção ou ejaculação. Os agrotóxicos, em especial os organofosforados, afetam os processos neuroendócrinos envolvidos na ereção e na ejaculação. Muitos agentes químicos atuam no sistema nervoso autônomo afetando a potência de ereção e de ejaculação. A impotência, a falência para obter ou sustentar a ereção, raramente é de origem endócrina; é, com frequência, de causa psicológica.

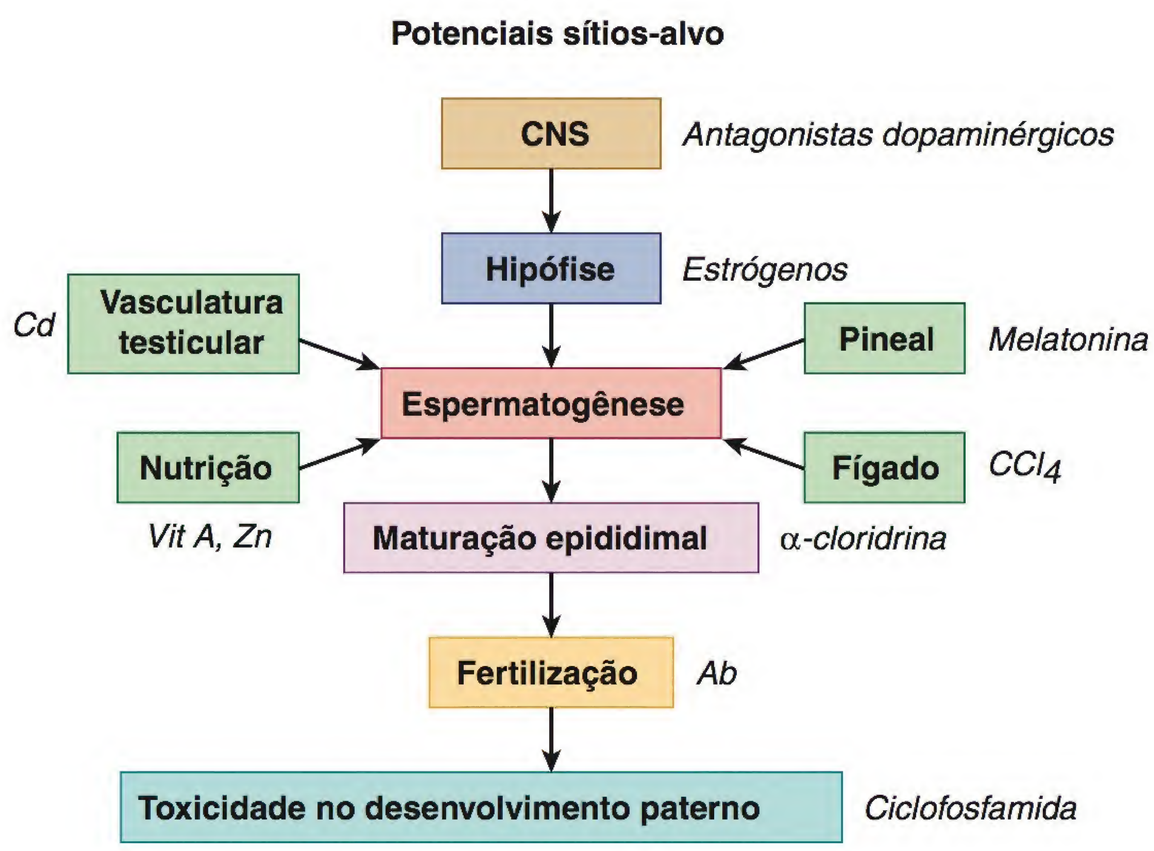


FIGURA 20.9 Sítios-alvo para ação de xenobióticos em machos. Exemplos de xenobióticos estão mostrados em itálico.

Estudos de caso dos efeitos tóxicos em machos

***m*-Dinitrobenzeno** O *m*-Dinitrobenzeno (*m*-DNB) tem sido extensivamente estudado pela sua capacidade de induzir deterioração rápida no testículo de ratos. O peso testicular dos animais permaneceu reduzido por semanas após o período de exposição, com efeito significante, dose-dependente, na fertilidade (mensurado pelas taxas de gestação e pelo sucesso na implantação).

Etilenoglicol monometil éter (EGME) O EGME produz toxicidade testicular em uma variedade de espécies, incluindo não mamíferos. Diversos estudos têm descrito ações nos vacúolos de células de Sertoli, alterações nas mitocôndrias das células germinativas e quebra da membrana entre a célula de Sertoli e o espermatócito paquíteno. Esse processo ocorre dentro de horas pela morte (provavelmente) dos espermatócitos paquítenos.

O EGME é metabolizado a intermediários ativos metoxiacetaldeído e ácido metoxiacético (MAA). Animais tratados com MAA apresentam lesões testiculares idênticas às do composto não metabolizado. A lesão não é característica de baixa concentração de andrógeno testicular, e os pesos dos órgãos sexuais acessórios não são características importantes associadas com doença testicular precoce.

GESTAÇÃO

A transição da fase inicial para a intermediária na gestação do rato requer hormônios fetoplacentais, e, se a implantação ou decidualização uterina é bloqueada por um agente químico, a fêmea reduz o ciclo de estrogênio e o corpo lúteo regride. Agentes químicos que induzem perda de toda a ninhada da fase intermediária até o final da gestação podem levar a abortos em algumas fêmeas, enquanto em outras o parto é prejudicado e a gestação permanece por períodos mais prolongados do que o habitual.

Muitos agentes abortivos atuam reduzindo os níveis de progesterona em ratos. Geralmente, a queda, pela metade, dos níveis de progesterona no meio da gestação é suficiente para interrompê-la.

SENESCÊNCIA

A exposição perinatal a agentes tóxicos com atividade estrogênica pode feminizar o eixo HPG, deixando as fêmeas acíclicas ou inférteis, enquanto as fêmeas menos afetadas apresentam a "síndrome anovulatória retardada" e tornam-se anovulatórias e acíclicas precocemente.

Em machos, a redução nos níveis de andrógenos ocorre em cerca de 20% nos homens de 60 anos, mas os efeitos da suplementação de andrógenos na reprodução durante a senescência não estão claros.

DISRUPÇÃO ENDÓCRINA

O potencial dos efeitos dos EDCs na saúde humana e seus efeitos comprovados em animais selvagens são os maiores focos de investigação na comunidade científica. Tem sido sugerido que a exposição uterina a estrógenos, antiandrógenos ou agentes químicos como ftalatos ou 2,3,7,8-TCDD pode ser responsável pela redução na contagem do número de espermatozoides e pelo aparente aumento de testículos criptorquídicos, câncer testicular e hipospádias.

Exposições a ftalatos estão associadas a AGD reduzida em meninos e baixos níveis de testosterona em homens. Em fêmeas, a exposição a EDCs durante o desenvolvimento pode contribuir para a puberdade precoce e para índices elevados de endometriose e câncer de mama. Além dos agrotóxicos e de outras substâncias tóxicas no meio ambiente, muitos compostos como fitoesteróis, estrógenos, antibióticos, betabloqueadores, antiepiléticos e agentes reguladores de lipídeos apresentam atividade disruptora endócrina significante e são capazes de induzir toxicidade reprodutiva.

No que concerne a animais selvagens e manutenção do ecossistema, é sugerida uma relação clara de causa-efeito entre a exposição a EDCs e efeitos adversos em várias classes de vertebrados, de peixes a mamíferos.

Efeitos conhecidos dos EDCs em humanos e em animais

A lista de agentes químicos conhecidos por alterar as funções do desenvolvimento ou dos mecanismos endócrinos em humanos, em animais domésticos ou selvagens inclui 2,3,7,8-TCDD, PCBs e dibenzofuranos policlorados (PCDFs), metilmercúrio, etinilestradiol, alquilfenóis, esteroides de plantas ou de fungos, andrógenos, clordecona, DBCP, diclorodifeniltricloroetano (DDT) e outros compostos organoclorados. Além desses xenobióticos, mais de 30 fármacos usados durante a gestação podem alterar o desenvolvimento humano como consequência da disrupção endócrina. Esses fármacos não estão limitados a estrógenos, como o dietilestilbestrol (DES). Os EDCs são conhecidos por alterarem o desenvolvimento humano por vários mecanismos, que incluem ação sobre o receptor de estrógeno (ER), incluindo a ligação dos receptores de ácido retinoico (RAR e RXR), e inibição da síntese de enzimas estereoidogênicas ou hormônios tireoidianos. A relação dos efeitos dos níveis de PCBs no desenvolvimento neurocomportamental da criança tem contribuído para a identificação dos efeitos dos EDCs na saúde humana, via alteração da função hormonal.

Diferenciação sexual humana A exposição a agentes químicos com função hormonal durante a diferenciação sexual pode acarretar pseudo-hermafroditismo. Fármacos androgênicos como danazol e metiltestosterona podem masculinizar as mulheres (i.e., "fêmeas pseudo-hermafroditas"). O fármaco aminoglutetimida, que altera a síntese de hormônios esteroidais de maneira idêntica a muitos fungicidas, também masculiniza mulheres após a exposição intrauterina.

A exposição transplacentária a DES no feto em desenvolvimento causa adenocarcinoma de vagina, bem como anormalidades estruturais da cérvix, do útero e da trompa de falópio. Essas exposições femininas ao DES são mais relacionadas a um efeito adverso no resultado da gestação, incluindo abortos espontâneos, gestação ectópica ou parto prematuro. Alguns dos efeitos deletérios em machos após a exposição ao DES são resultantes de inibição da ação ou síntese do andrógeno (subdesenvolvimento ou ausência de vasos deferentes, epidídimo, vesículas seminais) e fator ducto anti-mülleriano (persistência dos ductos müllerianos).

Efeitos conhecidos de produtos de plantas ou de fungos em animais e em humanos Apesar de a maioria dos estrógenos de ocorrência ambiental ser relativamente inativa, o fitoestrógeno miroestrol é quase tão potente quanto o estradiol *in vitro* e até mais potente do que o estradiol quando administrado por via oral. Além disso, muitos estrógenos provenientes de plantas estão presentes em concentrações tão elevadas que podem provocar toxicidade em animais domésticos. A "doença do trevo", que é caracterizada por distocia, prolapso do útero e infertilidade, é observada em carneiros que pastam em gramados com trevo ricos em estrogênio. Infertilidade permanente pode ser observada em ovelhas em concentrações menores de estrógenos e por um período de tempo mais prolongado do que o necessário para produzir a "doença do trevo".

Efeitos conhecidos de compostos organoclorados em humanos Vários agrotóxicos e substâncias tóxicas alteram a função do sistema reprodutivo. A exposição acidental intrauterina, em altas doses, a PCBs e a PCDFs causa alterações reprodutivas em meninos, aumento do número de natimortos, baixo peso ao nascer, malformações, déficits de QI e comportamentais. Além dos efeitos associados à exposição acidental, efeitos adversos sutis foram observados em crianças expostas a baixos níveis de exposição a PCBs e PCDFs.

Um metabólito do DDT (mitotano, *o,p*'-DDD) altera a função das glândulas adrenais com potência suficiente para ser empregado como um medicamento para tratar hipersecreção esteroide pelas glândulas adrenais, quando causada por tumores. Foi mostrado, ainda, que a administração de baixas doses de mitotano reestabeleceu a menstruação em mulheres com espaniomenorreia associada a hipertricose.

Exposições ocupacionais Exposições ocupacionais a agrotóxicos e outras substâncias tóxicas (i.e., clordecona e DBCP) no ambiente de trabalho têm sido associadas a redução na fertilidade, baixo número de espermatozoides e/ou alterações endócrinas nos trabalhadores. Trabalhadores expostos a altos níveis de clordecona, um agrotóxico organoclorado neurotóxico e com atividade estrogênica, apresentaram toxicidade severa e função testicular anormal. Trabalhadores do sexo masculino envolvidos na manufatura de 4,4'-diaminoestilbeno-2,2'-ácido dissulfônico (DAS), um reagente fundamental para a síntese de corantes e de agentes alvejantes fluorescentes, apresentaram níveis inferiores de progesterona plasmática e redução da libido em comparação a trabalhadores não expostos. É, portanto, surpreendente que a exposição ocupacional a EDCs em concentrações efetivas não tenha sido eliminada inteiramente do ambiente de trabalho.

Andrógenos ambientais

Foi detectada atividade androgênica em diversas misturas ambientais complexas. Efluentes de moinhos de polpa e de papel (PME) compreendem uma mistura química que se liga a receptores de andrógenos (AR) e induz expressão gênica andrógeno-dependente *in vitro*. Esse mecanismo de ação é consistente com a masculinização de fêmeas de *mosquitofish* (*Gambusia holbrooki*) coletadas de ambientes contaminados. Uma tendência a maior número de embriões de peixes machos tem sido observada em ninhadas de *eelpout* (*Zoarces viviparus*) na vizinhança de um grande moinho na costa báltica da Suécia, sugerindo que compostos masculinizantes nos efluentes estavam afetando a diferenciação gonadal e a proporção entre os sexos. Tem sido demonstrado que efluentes de indústrias de concentrados à base de carne de gado para alimentação de animais causam androgenicidade.

Antiandrógenos ambientais

Fungicidas Vinclozolin e procimidona são dois membros da classe dos fungicidas que atuam como antagonistas de AR. Esses agrotóxicos, ou seus metabólitos, inibem competitivamente a ligação de andrógenos a AR, causando inibição da expressão gênica dependente de andrógenos.

A administração de vinclozolin durante a diferenciação sexual desmasculiniza e feminiliza os fetos de ratos. Fetos de machos expostos apresentam AGD similar a fêmeas ao nascer, com

mamilos retidos, hipospádias, testículos ectópicos supraginuinais, bolsa vaginal cega e glândulas sexuais acessórias reduzidas ou ausentes.

A exposição a procimidona induz encurtamento da AGD em filhotes machos, e machos mais velhos apresentam mamilos retidos, hipospádias, criptorquidismo, fenda palatina, bolsa vaginal e tamanho reduzido das glândulas sexuais acessórias. Fibrose, infiltração celular e hiperplasia epitelial são notadas nos tecidos dorsolateral e ventral prostáticos e vesicular seminal na fase adulta dos fetos.

Linuron (herbicida) Este herbicida se liga a AR de ratos e humanos e inibe a expressão gênica induzida pelo DHT-hAR *in vitro*. A exposição intrauterina de linuron resulta em machos com anormalidades testiculares e epididimais. Ainda, a produção fetal de testosterona é significativamente reduzida em fetos machos tratados com linuron.

Ftalatos (plastificantes) No útero, alguns ésteres de ftalatos alteram o desenvolvimento do sistema reprodutivo de ratos machos expostos a doses relativamente baixas. A exposição pré-natal a DBP, butil benzil ftalato (BBP), diisononil ftalato (DINP) e Di-(2-etilhexil)ftalato (DEHP) causa uma síndrome, caracterizada por subdesenvolvimento e agenesia do epidídimo e anormalidades em outros tecidos dependentes de estrógenos e nos testículos. Os ftalatos têm a característica singular de induzir a agenesia dos cordões gubernaculares, cujo desenvolvimento é dependente de hormônio peptídeo 3 tipo-insulina.

Estrógenos ambientais

O metoxicloro é um agrotóxico estrogênico que produz efeitos tipo-estrógeno. Os metabólitos ativos induzem a expressão gênica dependente de estrógenos *in vitro* e *in vivo* em ratas, estimulando a resposta uterotrópica, acelerando o VO, induzindo o estro constante e reduzindo a infertilidade. Em ratas ovarectomizadas, a exposição ao metoxicloro também induz comportamento reprodutivo e não reprodutivo dependente de estrógeno, incluindo comportamentos sexuais femininos, atividade física e consumo de comida.

Quando administrado à prole durante a gestação e lactação, fetos machos e fêmeas são afetados. As fêmeas apresentam ciclo de estrógeno irregular e fecundação prejudicada. A fertilidade em machos não é alterada quando expostos a doses de até 200 mg/kg por dia.

O etinilestradiol é um derivado sintético do estradiol presente em quase todas as formulações atuais de medicamentos anticoncepcionais combinados. É encontrado em sistemas aquáticos contaminados por efluentes de esgotos, originados, principalmente, de excreção humana. Dessa forma, o etinilestradiol exerce papel relevante na disrupção endócrina em populações de peixes e de outras espécies de vertebrados inferiores.

Screening para EDC

O Endocrine Disruptor Screening and Testing Advisory Committe (EDSTAC) propôs um *screening* em série (série 1) e um protocolo de testes (série 2) para os EDCs. A bateria de testes recomendada foi desenhada para detectar alterações na função HPG, na síntese de estrógenos, andrógenos e hormônios da tireoide e nos efeitos mediados por AR e ER em mamíferos e em outras ordens.

Ensaios em mamíferos *in vivo* O EDSTAC recomenda o emprego de ratas de experimentação como a espécie de escolha para o *screening* endócrino e propõe três ensaios de curta duração *in vivo* em mamíferos para a bateria 1 de *screening*: os ensaios uterotrópico, Hershberger e puberal em fêmeas.

Ensaio uterotrópico Agonistas e antagonistas de estrógenos são detectáveis em ensaio de exposição de 3 dias após administração subcutânea do composto em teste. Os ensaios uterotrópicos selecionados para estrógenos e antiestrógenos usam animais jovens normais ou fêmeas adultas/jovens submetidas a ovarectomia.

Ensaio de Hershberger O segundo ensaio *in vivo* em série, o ensaio de Hershberger, detecta atividade antiandrogênica simplesmente por pesar tecidos dependentes de estrógenos em machos castrados. A próstata ventral, as glândulas de Cowper, a vesícula seminal (com glândulas coaguladas e fluidos), a glande peniania e os músculos suspensores bulbocavernosos são pesados 10 dias após o tratamento oral do composto testado. Esse ensaio é muito sensível para detectar andrógenos e antiandrógenos.

Ensaio puberal em ratas O terceiro ensaio *in vivo* em mamíferos na bateria de *screening* é o ensaio puberal em fêmeas. Ratas desmamadas recebem o composto teste por gavagem durante 21 dias, e a idade da VO (puberdade) é monitorada. As fêmeas são necropsiadas aos 42 dias de vida. Esse ensaio detecta alterações no perfil de secreção dos hormônios tireoidianos, função HPG, inibição da esteroidogênese, estrógenos e antiestrógenos. É altamente reprodutível e sensível a certas atividades endócrinas, incluindo estrogenicidade, inibição da esteroidogênese e atividade antitireoidiana.

TESTES PARA TOXICIDADE REPRODUTIVA

Screens e estudos de multigeração

Atenção especial tem sido dada ao desenvolvimento de *screens* para a toxicidade reprodutiva. Os regularmente empregados têm sido desenvolvidos para priorizar agentes químicos para testes mais completos.

A melhor avaliação da toxicidade da reprodução seria fornecida por um protocolo, no qual os animais seriam expostos a toxinas durante todo o ciclo reprodutivo (ver Fig. 20.1), e vários efeitos biológicos, em diferentes estágios, seriam avaliados durante a exposição contínua. O protocolo e as regras que se assemelham a esse ideal é o estudo de reprodução de multigeração (Fig. 20.10), usado para a avaliação de agentes químicos, agrotóxicos e alguns aditivos alimentares. Estudos de multigeração normalmente avaliam medidas detalhadas do perfil reprodutivo (número de fêmeas prenhes em comparação aos cruzamentos, número de fêmeas que geraram fetos, tamanho da ninhada e número de fetos vivos, com avaliação do peso e do sexo dos nascidos). Medidas do crescimento e análise dos órgãos reprodutores

FIGURA 20.10 Estudo de multigerações.

são realizadas na geração F^0 e F^1, e os fetos são examinados ao nascer (efeitos sexualmente dimórficos podem ser examinados, como o AGD), no desmame e na puberdade (sobretudo a avaliação do VO e o período do primeiro estro em fêmeas e a separação balanoprepucial em machos), além de serem feitas mensurações dos perfis reprodutivos, do peso dos órgãos, da histologia, etc.

Testes para disruptores endócrinos químicos

No *screening* em série e nos delineamentos dos testes, alguns agentes químicos que exercem respostas reprodutivas no *screening* dos testes série 1 (T1S) serão conduzidos para análise nos testes de ciclo completo e multigeracional. Na série 2 (T2T), são examinados a dose-resposta, a relevância da via de exposição, estágios críticos durante a vida e adversidade.

Os dados devem ser resumidos de maneira que seja possível delinear claramente a proporção de animais que serão afetados. Em estudos de teratogênese, os dados costumam ser apresentados e analisados dessa forma, indicando o número de malformados/número observado em bases individuais e da ninhada, enquanto estudos multigeracionais são frequentemente apresentados e analisados de forma diferente, mesmo quando respostas teratogênicas ou do desenvolvimento são notadas após o nascimento. Protocolos multigeracionais são usados em T2T, porque somente esses protocolos expõem os animais durante todos os estágios críticos do desenvolvimento e examinam a função reprodutiva da ninhada na maturidade.

Apesar de os testes multigeracionais do EPA fornecerem uma análise compreensiva da geração F^0 ou parenteral, muito poucos animais F^1 (ninhada com exposição durante o desenvolvimento) são examinados após a maturidade para detectar alguma alteração que não seja teratogênica mais profunda. Animais F^0 dentro de um grupo de dose costumam responder de maneira equivalente à exposição a um agente químico; entretanto, a resposta aos xenobióticos no útero pode variar significativamente mesmo dentro de uma ninhada com poucos animais, causando malformações reprodutivas graves em animais expostos a concentrações menores.

Os protocolos transgeracionais, em geral, usam poucos fetos (7 a 10 por grupo), mas examinam todos os animais em cada ninhada. Esses protocolos realmente empregam números menores de animais, mas fornecem alto potencial estatístico para detectar os efeitos reprodutivos na geração F^1. Os efeitos da exposição ao longo da vida de machos e fêmeas na geração F^1, que permite a detecção dos efeitos provocados no útero, durante a lactação, ou da ação direta após a puberdade, podem confundir a identificação do período em que o efeito tóxico foi iniciado (i.e., durante a vida adulta *versus* desenvolvimento) ou qual dos sexos foi afetado.

Alguns EDCs interrompem a gestação por alterarem a produção de hormônios ovarianos nas fêmeas F^0 em concentrações que parecem não exercer efeito direto sobre a prole. Nesses casos, pode ser recomendado o protocolo padrão mutilgeracional do EPA com poucas modificações, ou o protocolo transgeracional com exposição continuada após o desmame. Os protocolos transgeracionais ou de lactação *in utero* preenchem a lacuna nos programas de testes para EDCs, que devem ser empregados somente para analisar caso a caso.

Testes para produtos farmacêuticos

No caso das indústrias farmacêuticas, a condução de estudos multigeracionais é rara, porque um único fármaco não é usado por toda a população e a exposição a ele ocorre em diferentes fases da vida e, não necessariamente, de forma crônica. Três testes específicos são realizados:

1. **Estudo de fertilidade e desenvolvimento embrionário precoce** (ver Fig. 20.11). Os pais quando adultos são expostos aos agentes químicos por 2 semanas (fêmeas) ou 4 semanas (machos) antes e durante o cruzamento. As fêmeas continuam sendo expostas até a implantação. Após a gestação ter sido confirmada, os machos podem ser necropsiados para a detecção dos efeitos tóxicos observados nos estudos multigeracionais, e, para as fêmeas prenhes, a necropsia ocorre após

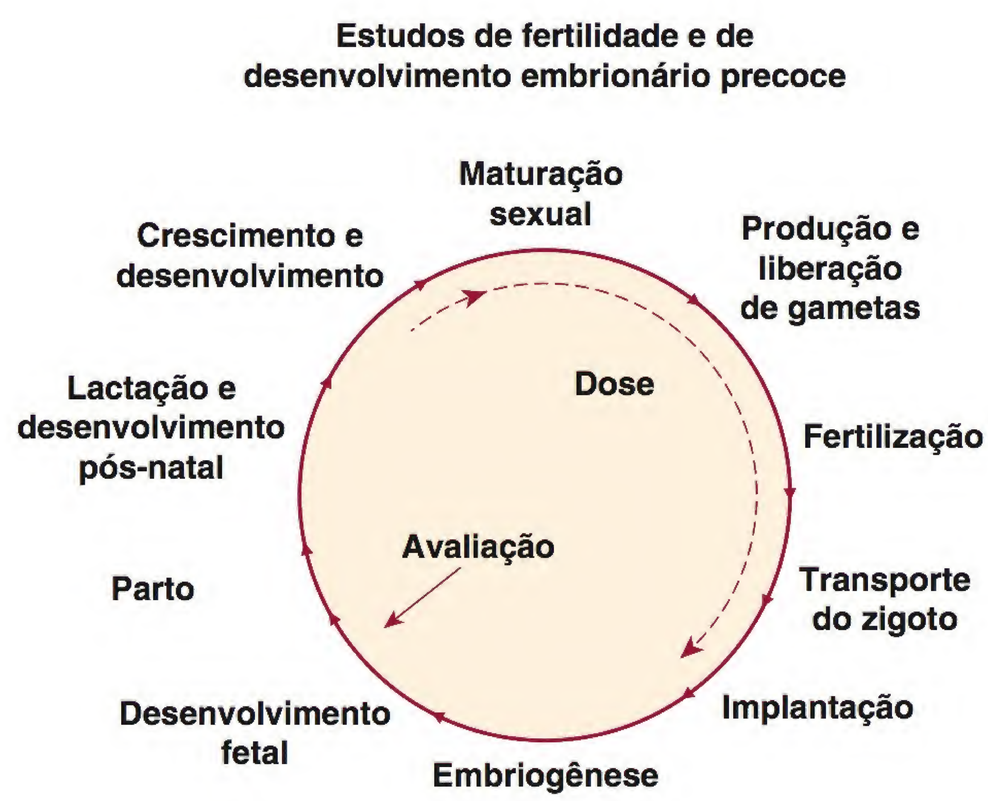


FIGURA 20.11 Estudos de fertilidade e de desenvolvimento embrionário precoce.

FIGURA 20.12 Estudo da toxicidade pré e pós-natal. A exposição ocorre desde a implantação até a ninhada ser desmamada.

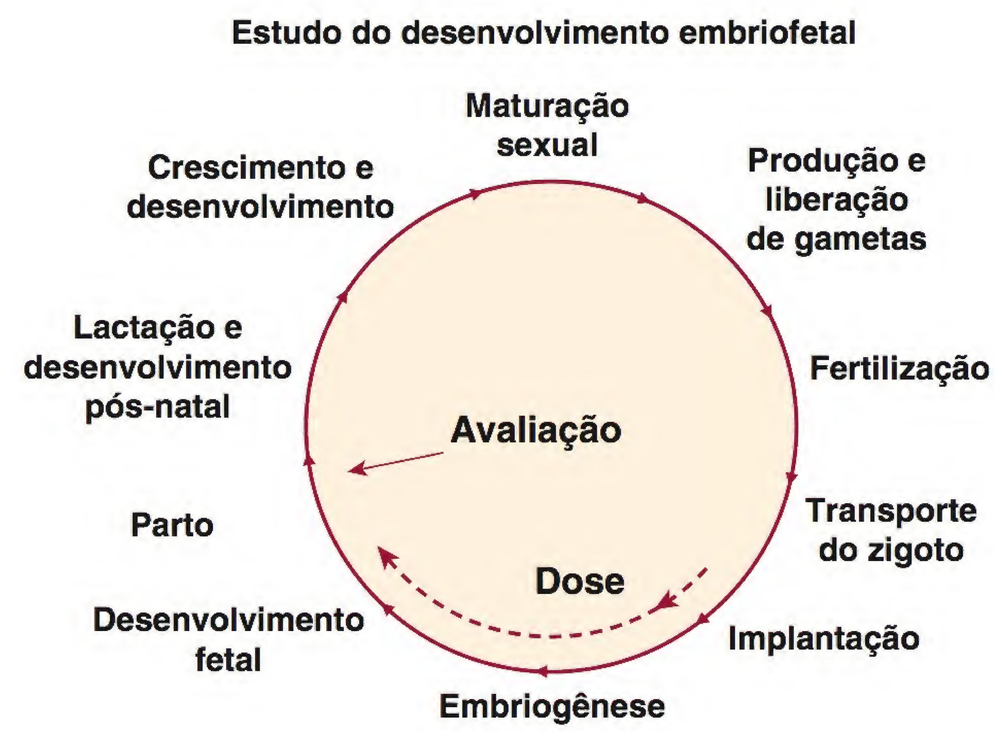


FIGURA 20.13 Estudo da toxicidade do desenvolvimento embriofetal, como empregado pelas regras da FDA. A exposição começa na implantação e continua até o fechamento da fenda palatina com avaliação dos fetos imediatamente antes do nascimento.

a metade da gestação. Os órgãos reprodutores são pesados e examinados histologicamente, os parâmetros espermáticos são examinados em machos, e os sítios de implantação uterina e o corpo lúteo ovariano são quantificados nas fêmeas, bem como o número de embriões vivos ou mortos.

2. **Estudo de efeitos no desenvolvimento pré e pós-natal, incluindo a função maternal** (ver Fig. 20.12). Nesse estudo, as fêmeas prenhes são expostas desde a implantação até o desmame de sua prole (normalmente PND 21 no rato). Após o fim da exposição, a ninhada selecionada (um macho e uma fêmea por ninhada) é acompanhada até a idade adulta e acasalada para o acompanhamento da competência reprodutiva. São observados a maturação e o crescimento (mas não são expostos). Índices da puberdade, como os empregados nos estudos multigeracionais, são quantificados. Além disso, são avaliadas as funções sensoriais e motoras, o aprendizado e a memória.
3. **Estudo do desenvolvimento embriofetal** (ver Fig. 20.13). Esse estudo, diferentemente dos dois primeiros, costuma ser realizado com duas espécies animais (ratos e coelhos). A exposição é realizada entre a implantação e o fechamento da fenda palatina, e as fêmeas são sacrificadas antes do parto. Na necropsia, são analisadas alterações teciduais em diferentes órgãos, e o corpo lúteo é quantificado. Fetos vivos ou mortos são mensurados e submetidos a análise de anormalidades externas, viscerais e esqueléticas.

Uma das seguintes três conclusões sobre o risco pode ser aplicada para o medicamento testado: 1) o medicamento não causa efeitos na reprodução ou no desenvolvimento em humanos, quando empregado de acordo com as instruções posológicas do produto; 2) o medicamento pode aumentar a incidência de efeitos adversos na reprodução ou no desenvolvimento; ou 3) supõe-se que o medicamento aumenta a incidência de efeitos adversos na reprodução ou no desenvolvimento em humanos quando empregado de acordo com as instruções posológicas do produto.

Uma análise do ciclo reprodutivo em comparação com as três opções de estudo preconizadas pela Food and Drug Administration (FDA) indica uma lacuna no esquema de exposição para o ciclo reprodutivo completo, chamada de exposição desde o desmame até a puberdade e a idade adulta. Esse período de exposição tem despertado o interesse de empresas que desenvolvem fármacos para administração em crianças e adolescentes, e protocolos "tipo ponte" têm sido desenvolvidos especialmente para mensurar a toxicidade que pode ocorrer após a exposição durante essa fase específica da vida.

AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE À REPRODUÇÃO

Existe um número de questões que o investigador deve notar ao avaliar o potencial de toxicidade no sistema reprodutivo:

- Adequação do protocolo e realização do protocolo experimental. Há potencial estatístico suficiente para a análise?
- Existência de prejuízos na reprodução raros e comuns. Significância biológica *versus* estatística.
- Emprego de dados controles históricos da linhagem para estimar a incidência natural de efeitos tóxicos.
- Relações estrutura-atividade conhecidas com potencial para induzir toxicidade na reprodução.
- Concordância entre os efeitos tóxicos estudados. Houve um decréscimo no tamanho da ninhada em relação às alterações na histologia ovariana e na citologia vaginal?
- Os prejuízos na reprodução foram mais graves com o aumento da dose? As alterações histológicas com uma certa dose passaram a causar redução no tamanho da ninhada e na fertilidade quando a dose foi aumentada?
- Os prejuízos na reprodução aumentaram em prevalência (mais indivíduos e/ou mais ninhadas) com o nível de dose em alguma geração?
- Um cuidado especial deve ser considerado para reduções nos parâmetros reprodutivos notados na geração F^1 (e potencialmente em gerações posteriores) que não foram notados na geração F^0, os quais podem sugerir toxicidade do desenvolvimen-

to, bem como da reprodução. Da mesma forma, as observações em uma geração F^1 podem (ou não podem) ser reproduzidas nos fetos na prole F^2. Efeitos na geração F^1 nos parâmetros reprodutivos, por exemplo, podem ter resultado na seleção de animais sensíveis dentro da população, não resultando, então, na prole F^2 para avaliações subsequentes.

REFERÊNCIAS

Kapp RW, Tyl RW (eds): Reproductive Toxicology. Boca Raton: CRC Press, 2009.

Norris DO, Carr JA (eds): Endocrine Disruption: Biological Basis for Health Effects in Wildlife and Humans. New York: Oxford University Press, 2006.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes células secreta o hormônio anti-müllleriano (AMH)?
   a. Espermatogônio
   b. Célula de Leydig
   c. Célula de Sertoli
   d. Espermatócito primário
   e. Espermátide

2. Ereções penianas são dependentes de:
   a. SNC
   b. Estimulação nervosa simpática
   c. Constrição da artéria helicina (peniana)
   d. Relaxamento do músculo liso dos corpos cavernosos
   e. Arco reflexo espinal

3. O corpo lúteo é responsável pela secreção de qual dos seguintes hormônios durante a primeira fase da gestação?
   a. Estradiol e hCG
   b. Progesterona e estradiol
   c. Progesterona e hCG
   d. FSH e LH
   e. FSH e progesterona

4. Todas as afirmações a seguir sobre o eixo hipotálamo-hipófise-adrenal são verdadeiras, EXCETO:
   a. O FSH aumenta a produção de testosterona pelas células de Leydig.
   b. O FSH e o LH são sintetizados na hipófise anterior.
   c. O estradiol fornece retroalimentação negativa no hipotálamo e na hipófise anterior.
   d. O GnRH do hipotálamo aumenta a secreção de FSH e LH liberados da hipófise anterior.
   e. O pico de LH durante o ciclo menstrual é responsável pela ovulação.

5. Qual das seguintes afirmações sobre o reparo do DNA no gameta é FALSA?
   a. O reparo de DNA nas células espermatogênicas depende da dose do xenobiótico.
   b. As células espermatogênicas são menos efetivas no reparo do dano ao DNA causado por agentes alquilantes.
   c. Os gametas das fêmeas têm capacidade de reparo na excisão de base.
   d. A maturação meiótica do oócito diminui sua capacidade de reparo na lesão do DNA.
   e. Os óvulos e o espermatozoide maduros não apresentam capacidade de reparar o dano do DNA.

6. A redução na divisão ocorre durante a transição entre quais dois tipos de células durante a espermatogênese?
   a. Espermatogônio e espermatócito primário
   b. Espermatócitos primário e secundário
   c. Espermatócito secundário e espermátide
   d. Espermátide e espermatozoide
   e. Espermatozoide e esperma maduro

7. Qual das alternativas contém o tipo celular e o produto de sua secreção?
   a. Células granulosas ovarianas – progesterona
   b. Células de Leydig – ABP
   c. Células da teca ovarianas – estrógenos
   d. Células de Sertoli – testosterona
   e. Gônadas – LH

8. Qual das seguintes afirmações referentes à capacidade de reprodução masculina é FALSA?
   a. Machos com síndrome de Klinefelter são estéreis.
   b. Os níveis de FSH são frequentemente mensurados para determinar o potencial tóxico de um xenobiótico em machos.
   c. Metais divalentes, como ouro, mercúrio e cobre, atuam como antagonistas do receptor de andrógeno e afetam a reprodução sexual do macho.
   d. O número de espermatozoides produzidos por dia é aproximadamente o mesmo em todos os machos.
   e. O ABP é um marcador bioquímico importante para a lesão testicular.

9. A redução na produção de espermas pode ser causada por todas estas doenças, EXCETO:
   a. Hipotireoidismo
   b. Sarampo
   c. Doença de Crohn
   d. Falência renal
   e. Caxumba

10. Das opções a seguir, qual é a MENOS provável de ser afetada pelo estrógeno?
   a. Sistema nervoso
   b. Sistema musculoesquelético
   c. Sistema digestório
   d. Sistema cardiovascular
   e. Sistema urinário

CAPÍTULO

21

Respostas Tóxicas do Sistema Endócrino

Charles C. Capen

INTRODUÇÃO

GLÂNDULA HIPÓFISE

- **Estrutura e função normais**
- **Mecanismos de toxicidade para a hipófise**
- **Alterações morfológicas e lesões proliferativas das células da hipófise**
  - Hiperplasia e neoplasia da hipófise

CÓRTEX DA ADRENAL

- **Estrutura e função normais**
- **Mecanismos de toxicidade para o córtex da adrenal**
- **Alterações patológicas e lesões proliferativas das células corticais**

MEDULA ADRENAL

- **Estrutura e função normais**
- **Mecanismos de toxicidade para a medula adrenal**

GLÂNDULA TIREOIDE (CÉLULAS FOLICULARES)

- **Estrutura e função normais**
  - Biossíntese dos hormônios tireoidianos
  - Secreção dos hormônios tireoidianos
- **Diferenças interespécies no funcionamento da tireoide**
- **Mecanismo de tumorigênese tireoidiana**
- **Xenobióticos que inibem diretamente a síntese de hormônios tireoidianos**
  - Bloqueio da captação de iodo
  - Inibição da tireoperoxidase resultando em deficiência da organificação da tireoide
- **Bloqueio da liberação de hormônio tireoidiano devido ao excesso de iodeto e lítio**
- **Indução de enzimas microssomais hepáticas**
- **Mecanismos secundários de tumorigênese tireoidiana e avaliação de risco**

CÉLULAS C TIREOIDIANAS

- **Estrutura e função normais**
- **Alterações morfológicas e lesões proliferativas das células C da tireoide**

GLÂNDULA PARATIREOIDE

- **Estrutura e função normais das células-chefe**
  - Biossíntese do hormônio da paratireoide
  - Controle da secreção do hormônio da paratireoide
- **Dano à paratireoide induzido por xenobióticos químicos**
  - Ozônio
  - Alumínio
  - L-asparaginase
- **Lesões proliferativas das células-chefe da paratireoide**

TESTÍCULOS

- **Estrutura e regulação endócrina das células (intersticiais) de Leydig**
- **Patologia dos tumores das células (intersticiais) de Leydig**
- **Mecanismos de desenvolvimento de tumor de células (intersticiais) de Leydig**

OVÁRIO

- **Tumores ovarianos associados a xenobióticos**
  - Nitrofurantoína
  - Moduladores seletivos dos receptores estrogênicos
- **Resumo: tumorigênese ovariana em roedores**

PONTOS-CHAVE

- As glândulas endócrinas são coleções de células especializadas que sintetizam, armazenam e liberam suas secreções diretamente na corrente sanguínea.
- Cada tipo de célula endócrina na adeno-hipófise está sob controle de um hormônio específico liberado pelo hipotálamo.
- Toxicantes podem influenciar a síntese, o armazenamento e a liberação dos hormônios hipotalâmicos, adeno-hipofisários e hormônios glândula endócrina-específicos.

INTRODUÇÃO

As glândulas endócrinas são coleções de células especializadas que sintetizam, armazenam e liberam suas secreções diretamente na corrente sanguínea. São como dispositivos de sensibilização e sinalização localizados no compartimento do fluido extracelular, capazes de responder às alterações dos meios interno e externo e coordenar múltiplas atividades responsáveis pela manutenção da homeostase.

GLÂNDULA HIPÓFISE

Estrutura e função normais

A glândula hipófise apresenta-se dividida em dois grandes compartimentos: (1) a adeno-hipófise (lobo anterior), composta pela *pars distalis*, *pars tuberalis* e *pars intermedia*, e (2) o sistema neuro-hipofisário, que inclui a *pars nervosa* (lobo posterior), o pedúnculo hipofisário e o núcleo hipotalâmico (supraóptico e paraventricular), constituído por neurônios neurossecretores, que sintetizam e armazenam os hormônios hipofisários em vesículas secretoras. A *pars intermedia* é formada por uma região celular estreita entre a adeno-hipófise e a neuro-hipófise. O suprimento de sangue arterial da glândula hipófise forma um plexo capilar que é drenado para os vasos portais hipotalâmicos-hipofisários responsáveis pela nutrição da adeno-hipófise. O sistema porta hipotalâmico-hipofisário transporta os hormônios hipotalâmicos liberadores e inibidores diretamente à adeno-hipófise, na qual eles interagem com as células glandulares específicas.

A *pars distalis* da adeno-hipófise é composta por múltiplas células endócrinas que secretam hormônios hipofisários. As células ou glândulas secretoras estão circundadas por capilares advindos do sistema porta hipotálamo-hipofisário. A *pars tuberalis* funciona principalmente como sustentação da rede capilar do sistema porta-hipofisário que percorre da eminência mediana para a *pars distalis*.

As células secretoras da adeno-hipófise podem ser classificadas funcionalmente em: somatotrofos, que secretam hormônio de crescimento (GH; somatotropina), luteotrofos ou lactotrofos,* que secretam hormônios luteotróficos (LTH; prolactina), gonadotrofos, que secretam hormônios luteinizante (LH) e hormônio folículo-estimulante (FSH), tireotrofos, que secretam hormônio estimulante da tireoide (TSH), e cromófobos ou corticotrofos,* que estão envolvidos na síntese de hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e hormônio melanócito-estimulante (MSH) em algumas espécies.

Cada tipo de célula endócrina da adeno-hipófise está sob controle de um hormônio específico liberado pelo hipotálamo (Fig. 21.1). Esses hormônios liberadores são pequenos peptídeos que são sintetizados e secretados por neurônios do hipotálamo e direcionados pelo sistema porta hipofisário às células hormônio-secretoras específicas na adeno-hipófise. Cada hormônio estimula a rápida liberação de hormônios tróficos específicos pré-formados nas vesículas secretoras. Hormônios liberadores específicos foram identificados para TSH, LH e FSH, ACTH e GH. A secreção de prolactina é estimulada por diferentes fatores, sendo que o mais importante deles parece ser o hormônio liberador de tireotrofina (TRH). A dopamina funciona como um dos principais fatores inibidores de prolactina e suprime tanto a secreção de prolactina como a produção de ACTH. A somatostatina (hormônio inibidor de somatotropina, SRIH) inibe a secreção de GH e de TSH. O controle da secreção dos hormônios tróficos da hipófise também é afetado pelo *feedback* negativo relacionado à concentração circulante dos hormônios nos órgãos-alvo.

Os hormônios neuro-hipofisários (i.e., ocitocina e hormônio antidiurético são sintetizados no corpo celular do neurônio hipotalâmico, armazenados nas vesículas secretoras, transportados pelos oxônios para a *pars nervosa* e, então, liberados na corrente sanguínea.

Enquanto as moléculas biossintéticas precursoras percorrem o axônio no interior de vesículas secretoras de neurônios neurossecretores, os precursores são clivados em hormônios ativos e suas respectivas neurofisinas.

Além das células tróficas hormônios-secretoras específicas, células suporte também estão presentes na adeno-hipófise. Estas, referidas como células estreladas ou foliculares, parecem apresentar função fagocitária ou de suporte associada à produção de material do tipo coloidal que se acumula nos folículos.

Mecanismos de toxicidade para a hipófise

Tumores da hipófise podem ser induzidos rapidamente por desregulação hormonal, levando ao aumento de síntese e secreção desses hormônios. A ausência de controle do *feedback* negativo das células da hipófise determina a proliferação irrefreada dessas células (inicialmente hiperplasia, e depois neoplasia). Por

* N. de T.: Dependendo do autor, a tradução diverge. Os hormônios neuro-hipofisários (i.e., ocitocina e hormônio antidiurético) são sintetizados no corpo celular do neurônio hipotalâmico, armazenados nas vesículas secretoras, transportados pelos axônios para a *pars nervosa* e, então, liberados na corrente sanguínea.

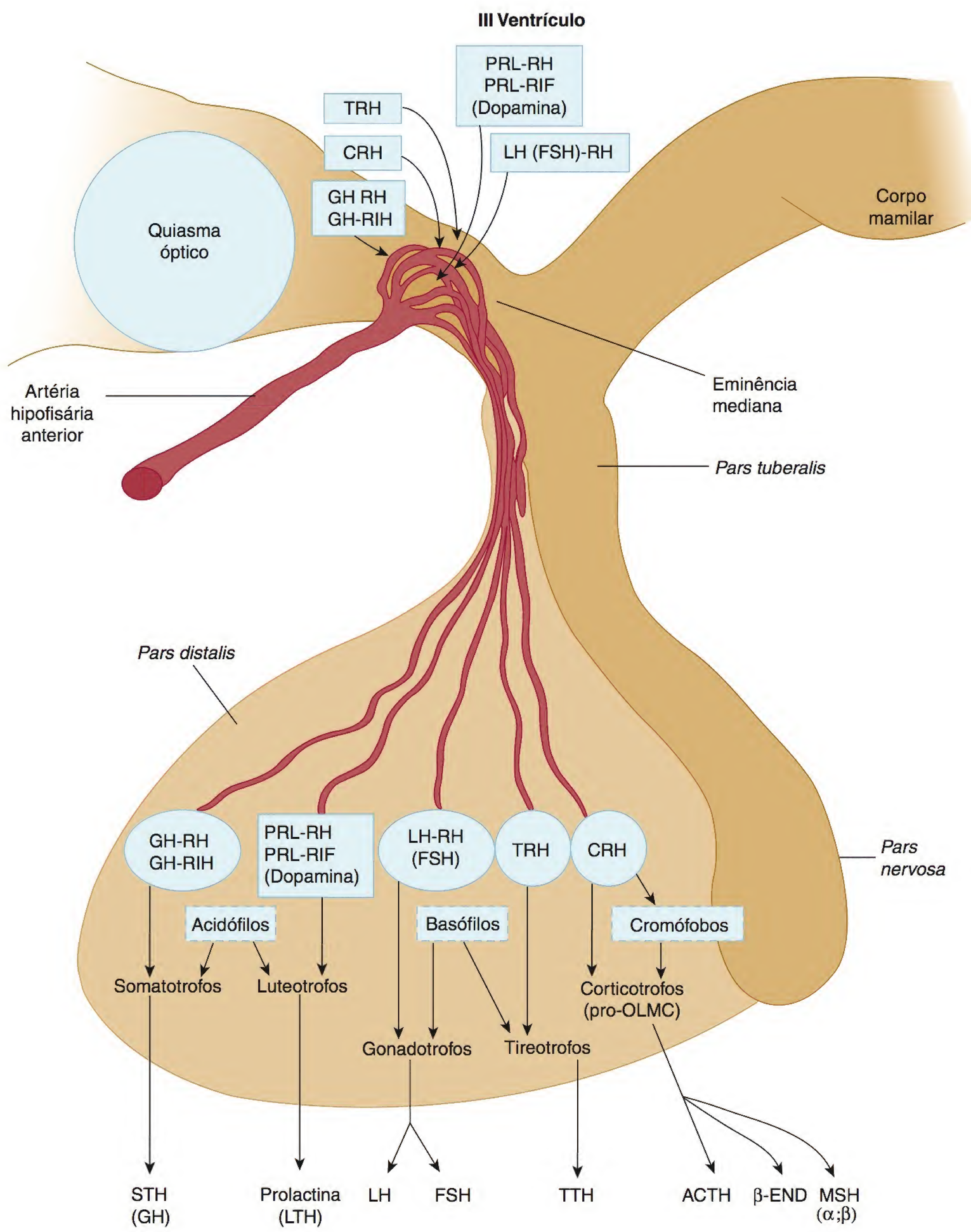


FIGURA 21.1 Controle da secreção de hormônio trófico da adeno-hipófise pelos hormônios liberadores hipotalâmicos (RH) e hormônios inibidores da liberação (RIH). O RH e o RIH são sintetizados pelos neurônios no hipotálamo, transportados via axônio e liberados no plexo capilar da eminência mediana. São transportados para a adeno-hipófise pelo sistema porta hipotalâmico-hipofisário, no qual interagem com a população de células tróficas específicas hormônio-secretadoras para gerenciar a taxa de liberação dos hormônios pré-formados, tais como hormônio de crescimento (GH), hormônio somatotrófico (STH), hormônio luteotrófico (LTH), hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo-estimulante (FSH), hormônio tireotrófico (TTH), hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) e hormônio estimulante de melanócito (MSH). Há RIHs para hormônios tróficos (p. ex., prolactina e hormônio do crescimento) que não influenciam diretamente a atividade das células-alvo; há a formação de um produto endócrino (hormônio) que pode exercer o controle negativo do *feedback*.

exemplo, remoção cirúrgica ou ablação induzida por radiação da tireoide ou interferência na produção de hormônios tireoidianos em decorrência do uso de inibidores químicos específicos provocam a estimulação da síntese e da secreção de TSH, determinando níveis sanguíneos elevados desse hormônio. As células tireotróficas na adeno-hipófise apresentam, então, hipertrofia relevante. De modo semelhante, há relatos de que estrógenos, cafeína, *N*-metilnitrosoureia e o neuroléptico sulpirida promovam o desenvolvimento de tumores na hipófise.

Alterações morfológicas e lesões proliferativas das células da hipófise

A calcitonina (CT) é produzida no hipotálamo posterior e na eminência mediana, na qual normalmente exerce efeito sobre o eixo hipotálamo-hipófise. Receptores CT foram identificados no hipotálamo e em menor número na glândula hipófise. Várias linhagens de ratos apresentam elevada predisposição ao desenvolvimento de tumores da hipófise quando comparadas ao homem.

Observa-se, na maioria dos estudos toxicológicos de longa duração, elevada frequência de adenomas hipofisários espontâneos em ratos de laboratório. A ocorrência desses tumores é determinada por muitos fatores, incluindo linhagem, idade, sexo, condição reprodutora e dieta.

Hiperplasia e neoplasia da hipófise A distinção entre hiperplasia focal, adenoma e carcinoma de glândula hipófise utilizando-se as técnicas histopatológicas é difícil. Parece haver um espectro contínuo de lesões proliferativas entre a hiperplasia focal ou difusa e os adenomas derivados de uma população específica de células secretórias. A estimulação prolongada dessas células secretórias geralmente predispõe o desenvolvimento subsequente de hiperplasia focal e de tumores com frequência maior do que o esperado.

A hiperplasia focal (nodular) na adeno-hipófise assemelha-se a diversas áreas pequenas bem demarcadas, mas não encapsuladas, adjacentes às células normais. Os adenomas são, em geral, nódulos solitários, ocorrendo com maior frequência do que as múltiplas áreas de hiperplasia focal. Os carcinomas, que costumam ser maiores do que os adenomas de hipófise, são, em geral, detectados macroscopicamente.

CÓRTEX DA ADRENAL

Estrutura e função normais

As glândulas adrenais (suprarrenais) nos mamíferos são órgãos bilobulados, achatados, próximos aos rins. O córtex é histologicamente caracterizado pela zona glomerulosa, zona fasciculada e zona reticular. A zona glomerulosa apresenta células produtoras de mineralocorticoides (aldosterona). A degeneração dessa zona ou uma interferência na secreção de aldosterona resulta em retenção, potencialmente fatal, de potássio e choque hipovolêmico associado à excessiva perda urinária de sódio, cloreto e água. A grande zona fasciculada é responsável pela secreção de hormônios glicocorticoides (p. ex., corticosterona ou cortisol). A zona mais interna do córtex, zona reticular, secreta quantidades mínimas de hormônios sexuais.

As células corticais da adrenal apresentam grandes vacúolos lipídicos no citoplasma, consistindo de colesterol e outros precursores de hormônios esteroides. Os vacúolos lipídicos estão próximos ao retículo endoplasmático liso e à mitocôndria e apresentam sistemas enzimáticos hidroxilase específicos e desidrogenase requeridos para a síntese de diferentes hormônios esteroides. Não há grânulos secretórios no citoplasma, uma vez que a secreção é direta, sem armazenamento significativo dos hormônios esteroides pré-formados.

A via biossintética habitual a partir do colesterol envolve a formação da pregnenolona, precursor básico das três principais classes de esteroides adrenais. A pregnenolona é formada após a hidroxilação dos carbonos posição 20 e 22 do colesterol e a subsequente quebra desses dois átomos de carbono. Na zona fasciculada, a pregnenolona é convertida primeiramente a progesterona por duas enzimas microssomais. Três reações de hidroxilação subsequentes ocorrem envolvendo os carbonos de posição 17, 21 e 11, nessa ordem. O esteroide resultante é o cortisol.

Os mineralocorticoides (p. ex., aldosterona) são secretados pela zona glomerulosa sob controle do sistema renina-angiotensina. Os mineralocorticoides afetam o transporte iônico das células epiteliais, particularmente das células renais, o que resulta na manutenção do sódio (cloreto e água) e na perda de potássio. No túbulo contorcido distal do néfron de mamíferos, a troca de cátions existente promove a reabsorção de sódio do filtrado glomerular e a secreção de potássio para o interior do lúmen.

O principal controle na produção de glicocorticoides é exercido pelo ACTH, um hormônio polipeptídico produzido pela adeno-hipófise da glândula hipófise. A liberação de ACTH é controlada pelo hipotálamo pela secreção do hormônio liberador de corticotrofina (CRH). Um aumento na produção de ACTH resulta em níveis elevados circulantes de glicocorticoides e, em algumas situações, pode resultar também em ligeira estimulação da secreção de aldosterona. O controle do *feedback* negativo normalmente ocorre quando elevados níveis sanguíneos de cortisol atuam no hipotálamo, na hipófise anterior ou em ambos suprimindo a secreção de ACTH.

Mecanismos de toxicidade para o córtex da adrenal

Pelo menos dois fatores contribuem para a predisposição do córtex da adrenal aos efeitos tóxicos de xenobióticos. Primeiro, as células corticais da adrenal da maioria das espécies animais contêm grandes depósitos de lipídeos usados, principalmente, como substrato da esterodoigenese. Muitos compostos tóxicos para o córtex da adrenal são lipofílicos e podem, dessa forma, acumular-se nas células ricas em lipídeos. Em segundo lugar, as células corticais apresentam enzimas que biotransformam os xenobióticos.

O comprometimento da esteroidogênese pode ocorrer pela inibição da biossíntese do colesterol ou pela biotransformação e desregulação das enzimas do citocromo P450. Os dois mecanismos podem levar a um acúmulo dos vacúolos lipídicos citoplasmáticos. Além disso, os toxicantes podem ser ativados pelas enzimas microssomais presentes nas células corticais. A ativação dos toxicantes pode resultar em geração de espécies reativas de oxigênio, dano à membrana e fosfolipidose celular.

As substâncias químicas tóxicas para o córtex da adrenal incluem compostos alifáticos de cadeia curta (3 ou 4 carbonos), indutores de lipidose e compostos anfifílicos. Os compostos alifáticos mais potentes envolvem a acrilonitrila, a 3-aminopropionitrila, o 3-bromopropionitrilo, o 1-butanotiol e o 1,4-butanodiol. Por analogia, os indutores de lipidose podem provocar acúmulo de gordura, o que, por sua vez, causa redução ou perda da função das organelas e eventual destruição celular. A aminoglutetimida, a anfenona e as anilinas são exemplos de indutores de lipidose. Compostos anfifílicos catiônicos biologicamente ativos, tais como cloroquina, triparanol e clorfentermina, promovem fosfolipidose generalizada com inclusões microscópicas ricas em fosfolipídeos que afetam a integridade funcional de lisossomos. Muitas das substâncias químicas que provocam alterações morfológicas nas glândulas adrenais também afetam a função cortical. Quimicamente, alterações na função da adrenal podem ser resultado do bloqueio da ação de adrenocorticoides em sítios periféricos ou da inibição da síntese e/ou secreção hormonal. No primeiro mecanismo, muitos antagonistas esteroides atuam por competição ou ligação aos receptores de hormônios esteroides, reduzindo, assim, o número de receptores disponíveis ou alterando sua afinidade de ligação. A cortexolona (11 α-desoxicortisol), um antiglicocorticoide, e a espironolactona, um antimineralo-

corticoide, são dois exemplos de antagonistas hormonais do córtex adrenal que atuam perifericamente.

Xenobióticos podem afetar a esteroidogênese adrenal. Substâncias químicas que promovem aumento nas gotículas lipídicas, por exemplo, com frequência inibem a utilização dos precursores esteroides, incluindo a conversão de colesterol a pregnenolona. As substâncias que afetam a estrutura da mitocôndria e do retículo endoplasmático liso podem comprometer a atividade de 11α-, 17α- e 21-hidroxilases, respectivamente, e estar associadas a lesões primárias na zona reticular e fasciculada. A atrofia da zona glomerulosa pode refletir a inibição específica da síntese ou secreção de aldosterona tanto direta (p. ex., inibição da 18α-hidroxilação) quanto indiretamente (p. ex., supressão do sistema renina-angiotensina) por substâncias como a espironolactona e o captopril.

Alterações patológicas e lesões proliferativas das células corticais

A hipertrofia cortical devida à deficiência da esteroidogênese ou a hiperplasia devida à estimulação crônica estão frequentemente presentes quando o córtex adrenal está aumentado em tamanho. Glândulas adrenais pequenas são, com frequência, indicativas de alterações degenerativas ou atrofia cortical da adrenal. Lesões nodulares que deformam ou aumentam uma ou ambas as glândulas adrenais sugerem a ocorrência de neoplasia.

As lesões das células corticais da adrenal associadas a lesões químicas podem ser classificadas como dano endotelial provocado pela acrilonitrila; dano mitocondrial com DMNM, *o,p'*-DDD, anfenona; desregulação do retículo endoplasmático com triparanol; agregação lipídica com anilina; agregação fosfolipídica lisossomal com clorofentermina; e efeitos secundários devidos à embolização das células medulares com acrilonitrila. Dano à mitocôndria e ao retículo endoplasmático liso ocorre após a exposição a substâncias químicas inibidoras da esteroidogênese.

MEDULA ADRENAL

Estrutura e função normais

O cerne da medula é composto por células cromafins que sintetizam e armazenam catecolaminas. As células medulares da adrenal humana podem conter tanto noradrenalina como adrenalina no interior de uma única célula cromafim.* A medula adrenal também contém um número variável de células ganglionares e células com grânulos secretores de pequenas dimensões (SGC) ou pequenas células com fluorescência intensa (SIF). As células SIF estão entre as células cromafins e as ganglionares e podem funcionar como interneurônios. As células medulares da adrenal também contém serotonina, histamina e vários neuropeptídeos, como encefalinas, neurotensina e neuropeptídeo Y.

Mecanismos de toxicidade para a medula adrenal

Vários mecanismos são responsáveis pelo desenvolvimento de lesões proliferativas da medula. A administração crônica de GH, por exemplo, é associada a aumento na incidência de feocromocitomas, bem como de tumores em outros locais. Tumores da hipófise secretores de pró-lactina também desempenham um papel importante no desenvolvimento de lesões proliferativas medulares. Ademais, vários neurolépticos que aumentam a secreção de prolactina pela inibição na produção de dopamina foram associados ao aumento na incidência de lesões proliferativas de células medulares em ratos. Os fármacos que favorecem essas lesões incluem nicotina, reserpina, zomepirac, isotretinoína, nafarelina (análogo LHRH), atenolol, terazosina, ribavirina e pamidronato (bifosfonato).

Fatores ambientais e dietéticos podem ser mais importantes do que fatores genéticos como determinantes da ocorrência de lesões proliferativas na medula adrenal de ratos. Essa ocorrência pode ser reduzida pela diminuição do conteúdo de carboidratos da dieta. Vários agentes, incluindo poliálcoois, que aumentam a incidência dessas lesões aumentam a absorção de cálcio pelo intestino. Íons cálcio, nucleotídeos cíclicos e prostaglandinas podem mediar tanto a secreção hormonal como a proliferação celular. O fato de que a vitamina D é, comprovadamente, o estímulo mais potente na proliferação das células cromafins medulares consolida a hipótese de que a alteração na homeostase do cálcio está envolvida na patogênese do feocromocitoma.

GLÂNDULA TIREOIDE (CÉLULAS FOLICULARES)

Estrutura e função normais

A tireoide consiste em folículos de tamanho variado (20 a 250 μm) que contêm coloide produzido pelas células foliculares (tirócitos). As células foliculares apresentam retículo endoplasmático rugoso extenso e um grande complexo de Golgi no citoplasma para síntese e empacotamento de quantidades substanciais de proteínas, que são, então, transportadas para o lúmen folicular.

Biossíntese dos hormônios tireoideanos A tireoglobulina é uma glicoproteína de elevado peso molecular sintetizada nas subunidades dos ribossomos do retículo endoplasmático das células foliculares. O iodo captado liga-se aos resíduos tirosila da tireoglobulina na superfície apical das células foliculares para formar, sucessivamente, monoiodotirosina (MIT) e diiodotirosina (DIT). Essas iodotironinas biologicamente inativas ligam-se entre si para formar os hormônios ativos triiodotironina (T_3) e tiroxina (T_4), que são secretados pela glândula tireoide. A tireoperoxidase oxida o íon iodeto (I^-) captado pelas células foliculares a iodo reativo (I_2), que se liga aos resíduos da tireoglobulina. A tireoperoxidase também funciona como enzima acopladora de T_3 e T_4, combinando MIT e DIT para formar T_3, ou dois DIT para formar T_4. Foi demonstrado que o transporte do iodo está associado ao cotransportador (*simporter*) Na^+–I^- (NIS) ligado ao transporte de Na^+.

* N. de T.: As células cromafins, principal tipo celular da medula da suprarrenal, dispõem-se em cordões em redor dos capilares sanguíneos. O nome "cromafim" é oriundo da cor amarelo acastanhada que essas células adquirem quando sujeitas a fixação com agentes que contêm ácido crômico. As catecolaminas nos grânulos cromafins oxidam, resultando em uma cor amarelo acastanhada; a essa reação dá-se o nome de "reação cromafim". Nas células cromafins, as catecolaminas são sintetizadas e armazenadas em vesículas secretoras. Rosmaninho-Salgado J, Alvaro AR, Grouzmann E, Duarte EP, Cavadas C. Neuropeptide Y regulates catecholamine release evoked by interleukin-1beta in mouse chromaffin cells. **Peptides**. 2007 Feb; 28(2): 310-4.

Secreção dos hormônios tireoidianos O controle do *feedback* negativo da secreção de hormônios tireoidianos é realizado por meio da resposta coordenada pelos níveis circulantes dos hormônios tireoidianos (especialmente T_3). Um decréscimo na concentração plasmática de hormônio tireoidiano é "percebido" por grupos de neurônios neurossecretores do hipotálamo que sintetizam e secretam TRH na circulação porta-hipofisária. O TSH é conduzido às células foliculares tireoidianas, nas quais ativa a adenilciclase e aumenta a velocidade das reações bioquímicas relacionadas à síntese e à secreção de hormônios tireoidianos.

Diferenças interespécies no funcionamento da tireoide

Estímulos crônicos do eixo hipófise-tireoide por xenobióticos, deficiência de iodo, tireoidectomia parcial e goitrogênicos naturalmente presentes em alimentos provavelmente predisponham os ratos a maior incidência de lesões proliferativas como resposta ao estímulo crônico de TSH do que na tireoide humana. A maior sensibilidade da tireoide de roedores está relacionada à menor meia-vida plasmática da tiroxina (T_4) em ratos do que no homem.

Mecanismo de tumorigênese tireoidiana

O tratamento crônico de roedores com compostos goitrogênicos resulta no desenvolvimento de adenoma de células foliculares. A tiouracila e seus derivados, sementes de brassica, eritrosina, sulfonamidas e outros compostos interferem diretamente na síntese ou secreção de hormônio tireoidiano, elevam o catabolismo desses hormônios e sua subsequente excreção biliar ou prejudicam a conversão periférica de T_4 a T_3. O decréscimo dos níveis de hormônio tireoidiano circulante resulta no aumento compensatório da secreção de TSH pela hipófise. A estimulação da tireoide pelo TSH leva a alterações proliferativas das células foliculares, que incluem hipertrofia, hiperplasia e, por último, neoplasia nos roedores.

Xenobióticos que inibem diretamente a síntese de hormônios tireoidianos

Bloqueio da captação de iodo A biossíntese dos hormônios tireoidianos ocorre no lúmen extracelular folicular. Substâncias essenciais, como o iodeto, são transportadas rapidamente contra o gradiente de concentração até o lúmen folicular e oxidadas pela tireoperoxidase a iodo reativo (I_2) (Fig. 21.2). Esse transporte de

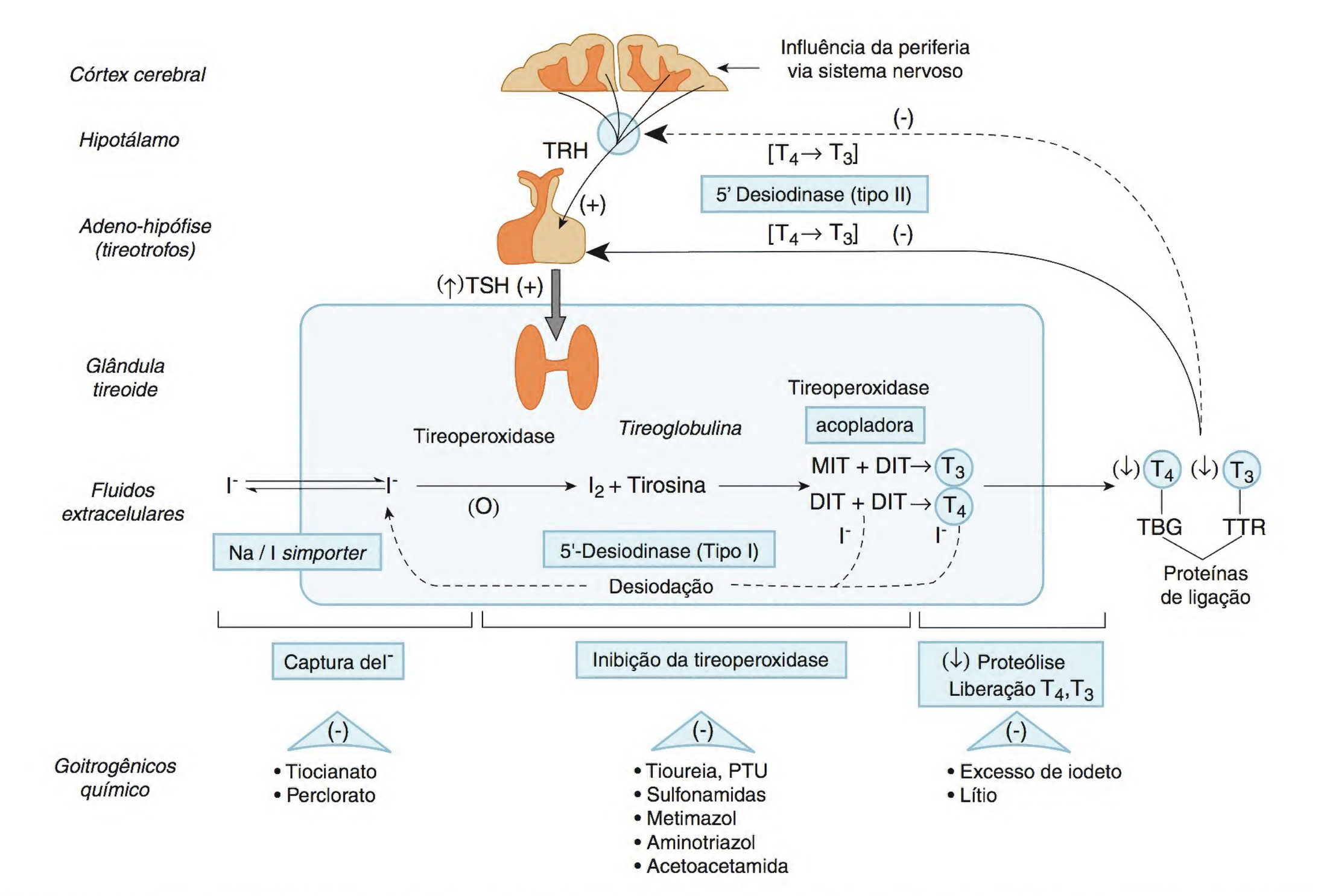


FIGURA 21.2 Mecanismo de ação dos goitrogênicos químicos na síntese e secreção de hormônios tireoidianos. (Reproduzida com permissão de Dunlop RH, Malbert C, Capen CC, O'Brien TD: Pathophysiology of Endocrine Homeostasis: Examples IN *Veterinary Pathophysiology*, Blackwell Publishing, 2004.)

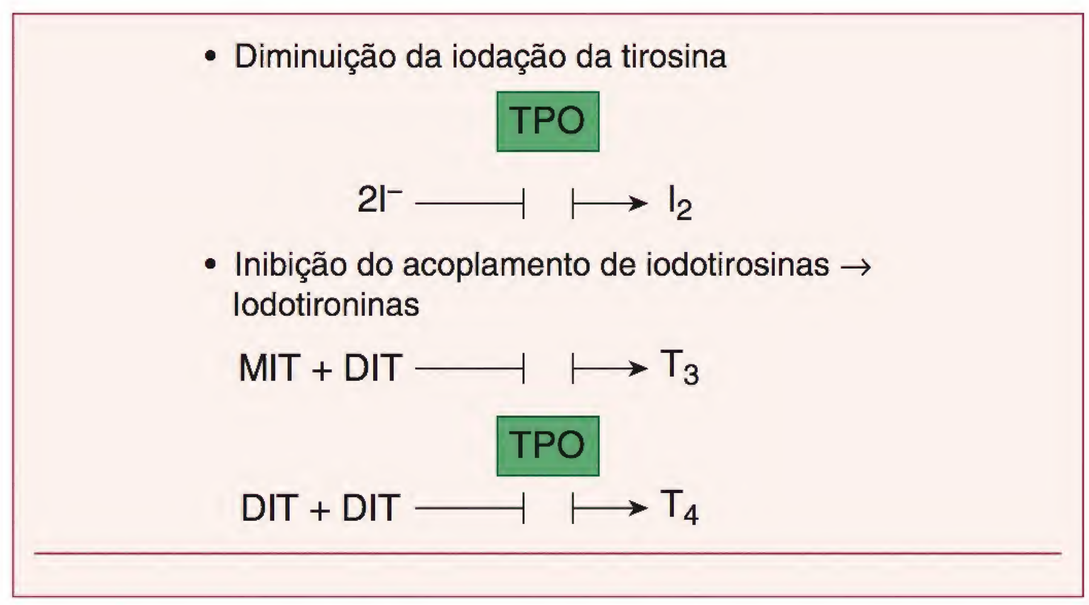


FIGURA 21.3 Mecanismos de diminuição da síntese de hormônios tireoidianos provocados por substâncias químicas pela inibição da tireoperoxidase (TPO) em células foliculares.

íon iodeto está relacionado ao transporte de Na^+. O sistema de transporte de iodo na glândula da tireoide pode ser inibido seletivamente por inibidores aniônicos competitivos, bloqueando a habilidade da glândula de iodar os resíduos de tirosina na tireoglobulina e sintetizar os hormônios tireoidianos.

Inibição da tireoperoxidase resultando em deficiência da organificação da tireoide A ligação gradativa de iodeto aos resíduos de tirosila na tireoglobulina requer oxidação do iodeto inorgânico ao iodo molecular (I_2) pela tireoperoxidase (Fig. 21.2). As classes de substâncias químicas que inibem a organificação da tireoglobulina incluem (1) as tionamidas (como tioureia, tiouracila, propiltiouracila [PTU], metimazol, carbimazol e goitrina); (2) derivados da anilina (p. ex., sulfonamidas, ácido para-aminobenzoico, ácido para-aminosalicílico e anfenona); (3) fenóis substituídos (tais como resorcinol, floroglucinol e ácido 2,4-dihidroxibenzoico); e (4) diversos inibidores (p. ex., aminotriazol, antipirina e iodopirina). Muitas dessas substâncias inibem a tireoperoxidase, desregulando a iodação dos resíduos tirosila na tireoglobulina e as reações de acoplamento da MIT e DIT para formar T_3 e T_4 (Fig. 21.3). A inibição da comunicação intercelular mediada por junções comunicantes (*gap junctions*) pela PTU ou por uma dieta pobre em iodo pode favorecer a proliferação das células foliculares da tireoide pelo comprometimento da passagem de substância(s) regulatória(s) por esses canais.

Bloqueio da liberação de hormônio tireoidiano devido ao excesso de iodeto e lítio

Relativamente poucas substâncias químicas inibem seletivamente a secreção de hormônios tireoidianos pela glândula tireoide (Fig. 21.2). Um excesso de iodo inibe a secreção de hormônio tireoidiano e, às vezes, pode resultar em bócio e funcionamento subnormal (hipotireoidismo) em animais e no homem. O carbonato de lítio inibe a liberação de hormônios da tireoide, o que, ocasionalmente, resulta no desenvolvimento de bócio.

Indução de enzimas microssomais hepáticas

A glicuronidação é a etapa limitante para a excreção biliar de T_4 e sulfatação para excreção de T_3. Substâncias químicas que induzem as enzimas de biotransformação podem resultar na estimulação crônica da tireoide pela desregulação do eixo hipotalâmico-hipófise-tireoide (Fig. 21.4). Indutores de enzimas microssomais são mais efetivos na redução de T_4 sérico do que de T_3 sérico. Xenobióticos que induzem as enzimas microssomais hepáticas e desregulam a função da tireoide em ratos incluem fármacos que atuam sobre o sistema nervoso central (p. ex., fenobarbital e benzodiazepínicos), bloqueadores dos canais de cálcio (p. ex., nicardipina e bepridila), espironolactona, retinoides, hidrocarbonetos clorados (p. ex., clordano, DDT e TCDD) e bifenilas poli-halogenadas (PCB e PBB), entre outros. A maioria dos indutores de enzimas microssomais hepáticas, aparentemente, não apresenta carcinogenicidade ou mutagenicidade intrínseca. O efeito promotor dessas substâncias em tumores tireoidianos é maior em ratos do que em camundongos, com os machos frequentemente apresentando maior incidência de tumores do que as fêmeas.

Não há evidência convincente de que seres humanos tratados com fármacos ou expostos a substâncias químicas que induzam as enzimas microssomais hepáticas apresentem maior risco de desenvolvimento de câncer de tireoide ou hepático. De fato, doses relativamente elevadas do indutor enzimático fenobarbital utilizadas cronicamente como anticonvulsivante, algumas vezes por toda a vida do paciente, não promoveram câncer de tireoide.

Mecanismos secundários de tumorigênese tireoidiana e avaliação de risco

Muitas substâncias químicas desregulam uma ou mais etapas da síntese e secreção de hormônios tireoidianos, resultando em níveis subnormais de T_4 e T_3 e, associadamente, no aumento da secreção de TSH (Fig. 21.4). Nos mecanismos secundários de oncogênese tireoidiana em roedores, xenobióticos ou perturbações fisiológicas específicas suscitam a hipersecreção crônica de TSH que promove o desenvolvimento de lesões proliferativas das células foliculares.

Em contraste com os ratos e camundongos, o homem é relativamente resistente ao desenvolvimento de câncer de tireoide, com incidência de aproximadamente 1% da população. Alguns indivíduos com defeitos congênitos na síntese de hormônios tireoidianos e elevados níveis circulantes de TSH, bem como aque-

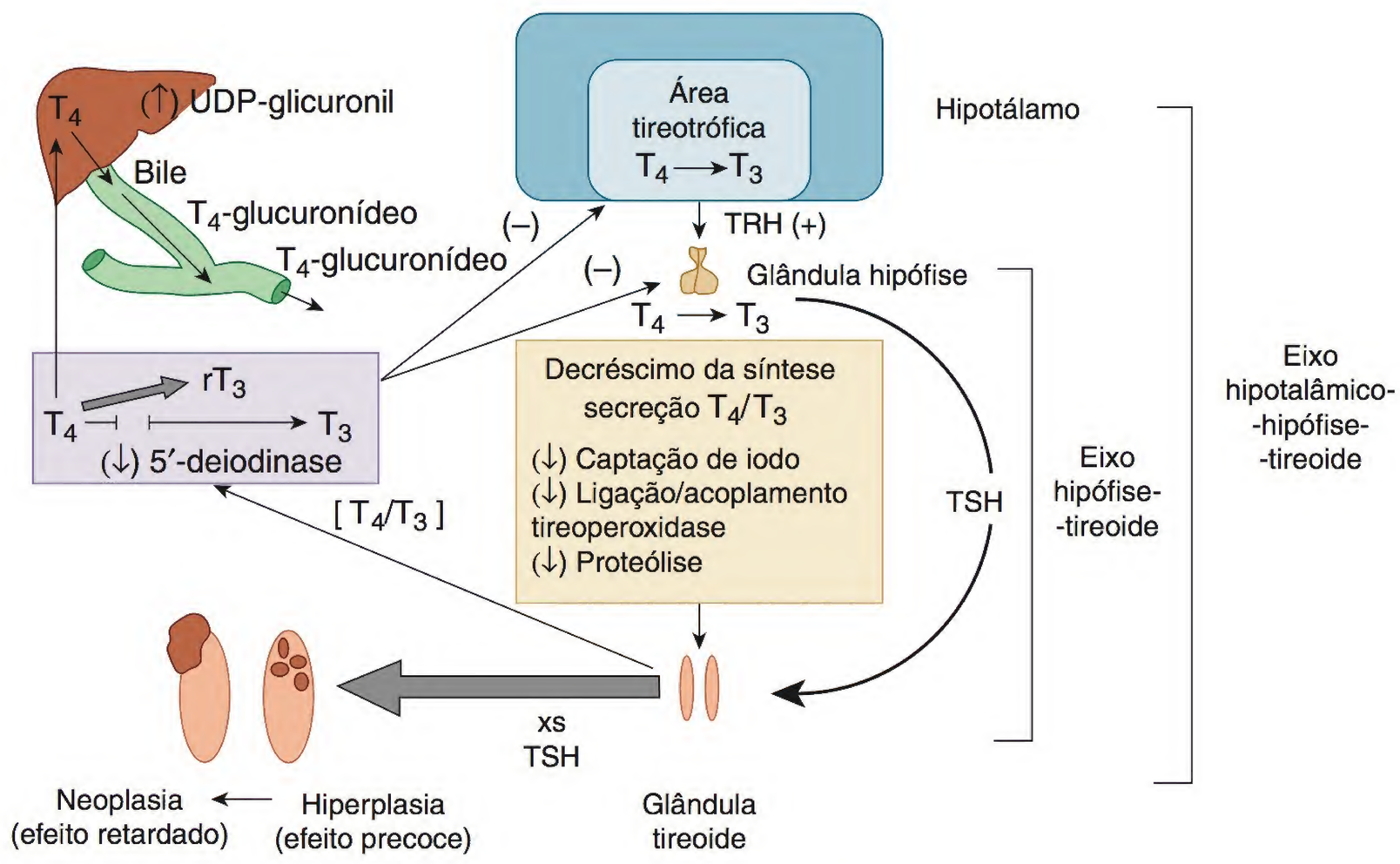


FIGURA 21.4 Múltiplos locais de desregulação do eixo hipotalâmico-hipófise-tireoide por xenobióticos. Substâncias químicas podem exercer efeito direto desregulando a síntese ou secreção de hormônios tireoidianos e influenciar indiretamente a tireoide pela inibição da 5´-deiodinase ou pela indução de enzimas microssomais hepáticas (p. ex., T_4-UDP-glicuroniltransferase). Todos esses mecanismos podem diminuir os níveis circulantes de hormônios tireoidianos (T_4 e/ou T_3), determinando a liberação e o aumento da secreção do hormônio estimulante da tireoide (TSH) pela glândula hipófise em virtude da inibição do *feedback* negativo. A hipersecreção crônica de TSH predispõe a sensível glândula tireoide de roedores a aumentar a incidência de hiperplasia focal e lesões neoplásicas (adenomas) por meio de mecanismos secundários (epigenéticos).

les tireotóxicos com doença de Graves, podem apresentar maior risco de desenvolvimento de tumores na glândula. A literatura sugere que a estimulação prolongada da tireoide humana ao TSH induzirá a neoplasia somente em circunstâncias excepcionais, possivelmente pela atuação conjunta com outras anomalias metabólicas ou imunológicas.

CÉLULAS C TIREOIDIANAS

Estrutura e função normais

A calcitonina (CT) é secretada pelas células C (células claras ou parafoliculares) na glândula tireoide de mamíferos. As células C contêm, em seu citoplasma, numerosos pequenos grânulos, nos quais a atividade da CT está localizada.

A CT é um hormônio polipeptídico secretado continuamente na normocalcemia. A taxa (velocidade) de secreção de CT é bastante aumentada em resposta à elevação do cálcio sérico. Células C armazenam quantidades substanciais de CT em seus grânulos secretórios. Em resposta à hipercalcemia, há uma descarga rápida do hormônio armazenado pelas células C para o interior dos capilares interfoliculares. O estímulo hipercalcêmico, se persistente, é seguido pela hipertrofia das células C. A hiperplasia das células C ocorre em resposta a hipercalcemia crônica.

A CT exerce sua função interagindo com as células-alvo, particularmente nos ossos e rins. Ela antagoniza a ação do hormônio da paratireoide na mobilização do cálcio presente no osso, mas diminui, de forma sinérgica, a reabsorção tubular renal de fósforo. A CT e o hormônio da paratireoide, atuando em conjunto, garantem um mecanismo dual de *feedback* negativo na manutenção vital de uma estreita faixa de concentrações do íon cálcio nos fluidos extracelulares.

Alterações morfológicas e lesões proliferativas das células C da tireoide

Há dois tipos de hiperplasia de célula C: difusa e focal (nodular) (Fig. 21.5). Na hiperplasia difusa, o número de células C está aumentado por todo o lobo da tireoide, sendo mais numerosas do que as células foliculares. Na hiperplasia focal da célula C, o acúmulo das células C proliferadas apresenta menor diâmetro do que a média de cinco folículos tireoidianos contendo coloide, com compressão mínima dos folículos adjacentes. Adenomas de células C são massas discretas e expandidas de células C maiores do que a média de cinco folículos tireoidianos contendo coloide. As células C presentes no adenoma podem estar subdivididas por uma fina camada de tecido conectivo e capilares dentro de pequenas cápsulas neuroendócrinas. Algumas vezes, depósitos amiloides podem ser encontrados tanto na hiperplasia nodular como nos adenomas.

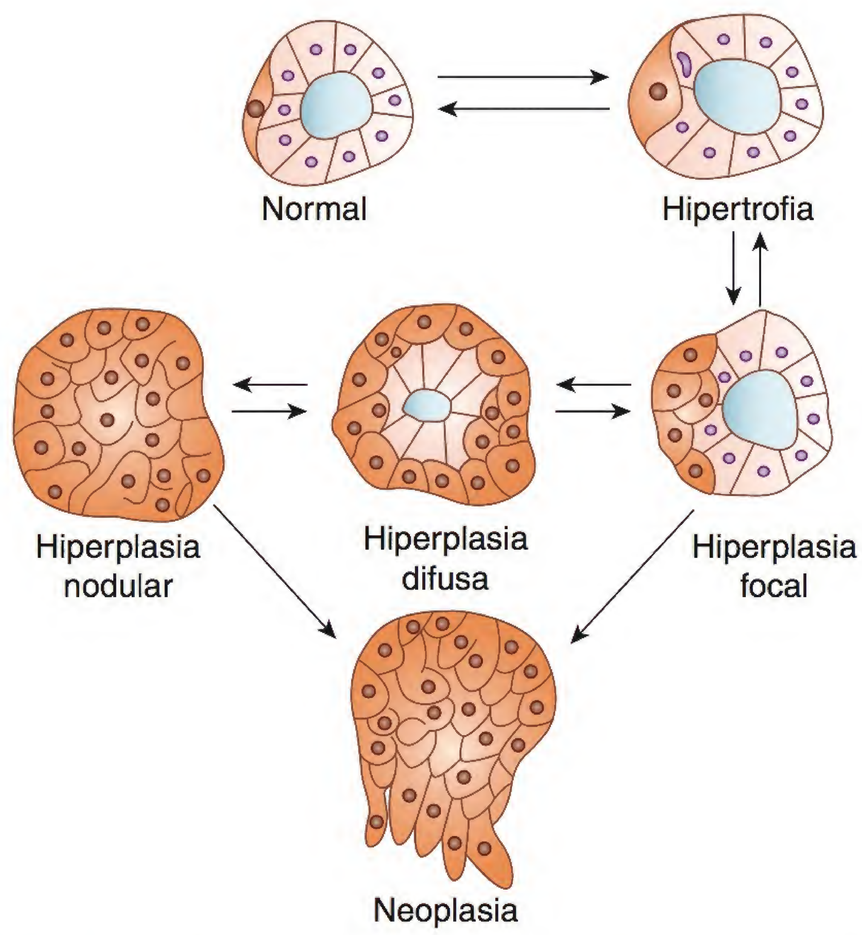


FIGURA 21.5 Hiperplasia focal e nodular das células C da tireoide, que frequentemente precedem o desenvolvimento de neoplasias das células C.

Carcinomas de células C resultam, com frequência, em aumento de um ou de ambos os lobos da tireoide em virtude da extensa proliferação de células C. Reações imunológicas da peroxidase para CT geralmente são mais intensas na hiperplasia difusa ou nodular, enquanto nos adenomas e carcinomas a imunorreatividade CT varia entre os tumores e diferentes regiões tumorais. Células C hiperplásicas adjacentes a adenomas e carcinomas são, em geral, fortemente positivas para CT.

GLÂNDULA PARATIREOIDE

Para manter a concentração de cálcio constante apesar das variações na ingestão e excreção, o controle endócrino é realizado por meio da interação, principalmente, de três hormônios: hormônio da paratireoide (PTH), CT e colecalciferol (vitamina D) (Fig. 21.6). A desregulação dos níveis de cálcio em animais resulta em hiper ou hipocalcemia e pode levar a distúrbio metabólico e óbito.

O PTH é o principal hormônio envolvido na regulação da calcemia em mamíferos. Em geral, os efeitos biológicos mais importantes do PTH são: (1) elevação da concentração sanguínea de cálcio; (2) diminuição da concentração sanguínea de fósforo; (3) aumento da excreção urinária de fósforo pelo decréscimo na taxa de reabsorção tubular; (4) aumento da reabsorção tubular de cálcio; (5) aumento da taxa de remodelamento do esqueleto e da taxa líquida de reabsorção óssea; (6) aumento do número de osteoclastos na superfície óssea e da taxa de osteólise; (7) aumento na excreção urinária de hidroxiprolina; (8) ativação da adenilciclase nas células-alvo; e (9) aceleração da formação do principal metabólito ativo da vitamina D.

Estrutura e função normais das células-chefe

Biossíntese do hormônio da paratireoide As células-chefe da paratireoide no homem e em muitas espécies animais ar-

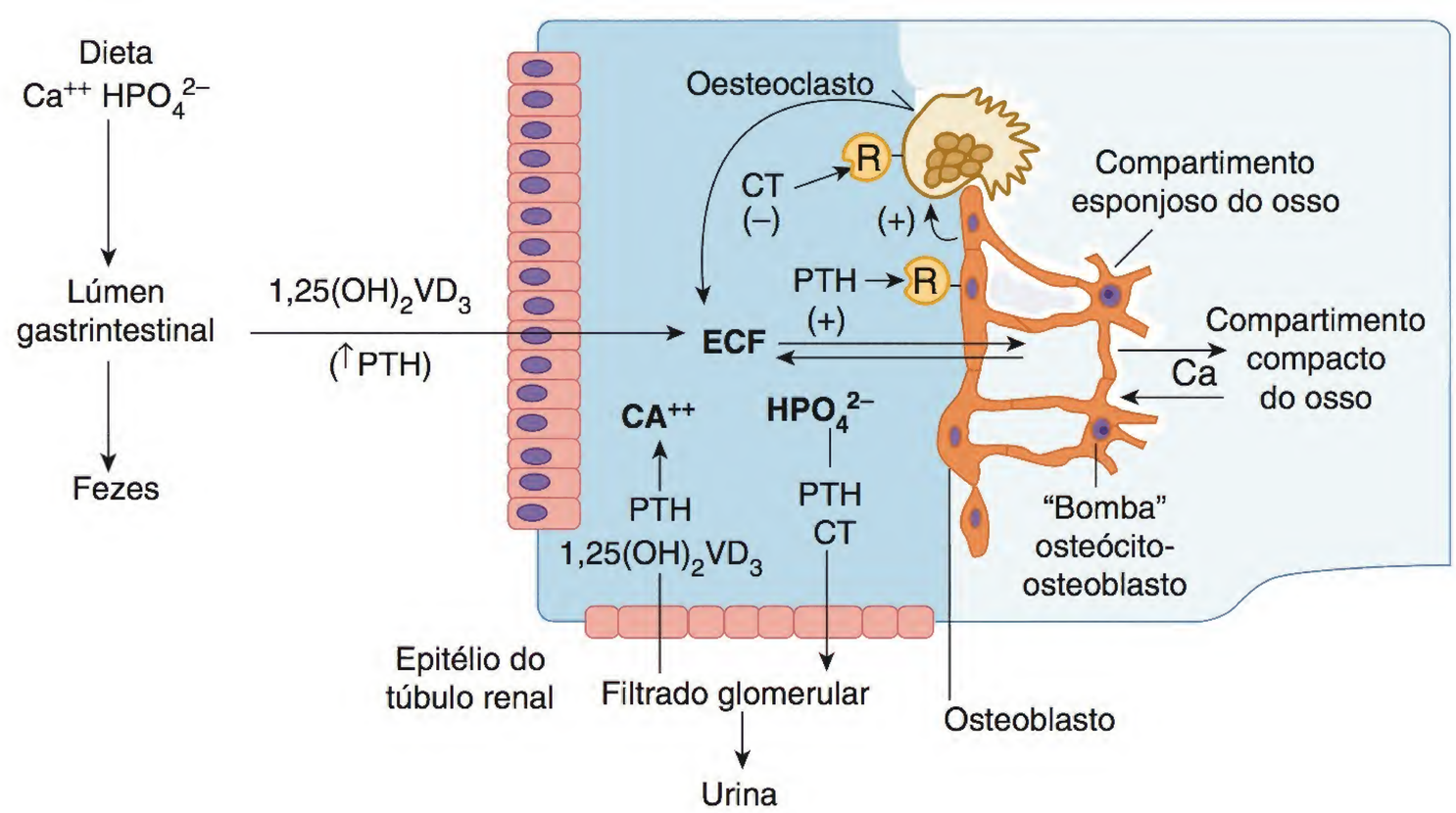


FIGURA 21.6 Inter-relação do hormônio da paratireoide (PTH), da calcitonina (CT) e do 1,25– diidroxicolecalciferol (1,25 $(OH)_2VD_3$) na regulação do cálcio (Ca) e do fósforo nos fluidos extracelulares. Os receptores para PTH estão nos osteoblastos, e para CT, nos osteoclastos nos ossos. O PTH e a CT apresentam ação antagônica nos ossos, mas são sinérgicos na estimulação da excreção renal de fósforo. A vitamina D exerce sua ação primariamente no intestino, para aumentar a absorção tanto do cálcio como do fósforo.

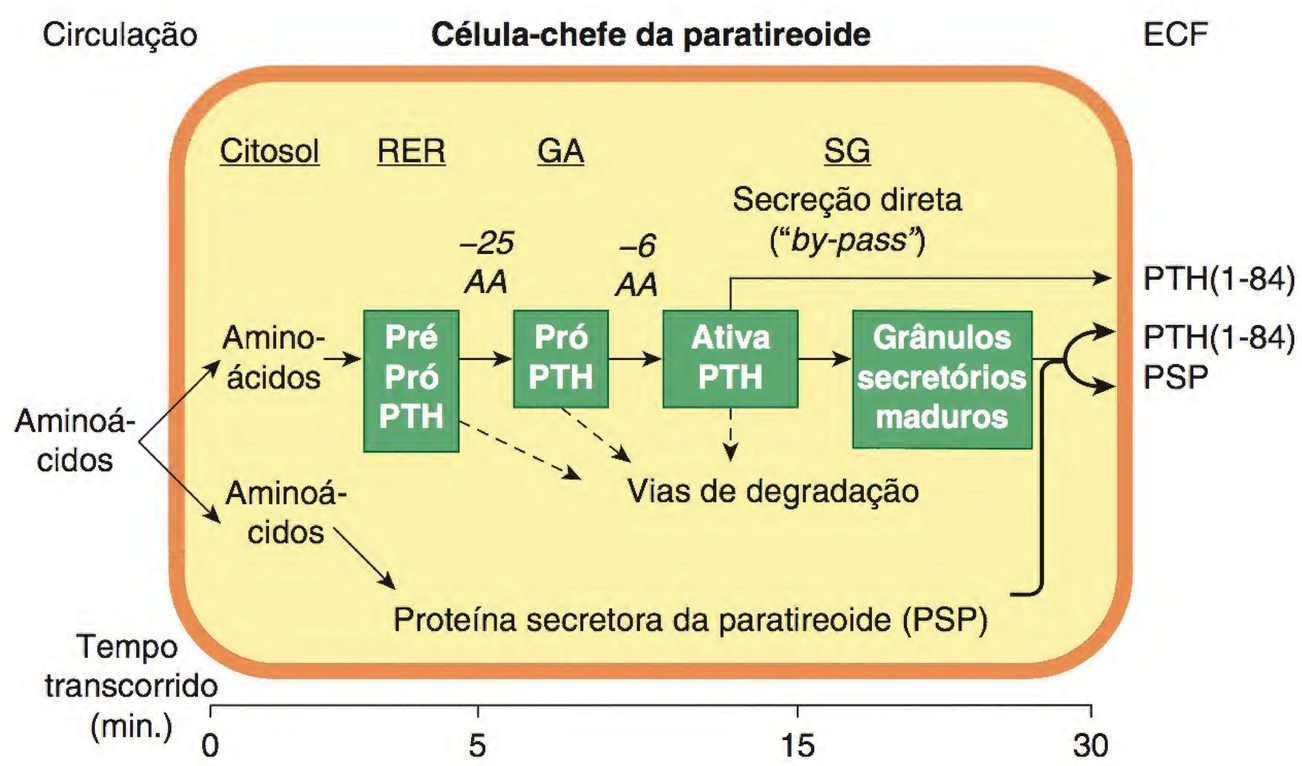


FIGURA 21.7 Biossíntese do hormônio da paratireoide (PTH) e proteína secretora da paratireoide (PSP) pelas células-chefe da paratireoide. O PTH ativo é sintetizado como uma biomolécula precursora grande (pré-próPTH) que sofre rápida conversão a próPTH antes da secreção pelas células-chefe como PTH ativo (aminoácidos 1 a 84).

mazenam quantidades relativamente pequenas de hormônio pré-formado, mas respondem rapidamente às variações na necessidade do hormônio por meio da alteração na velocidade de síntese desse hormônio (Fig. 21.7). Em determinadas circunstâncias de maior demanda (p. ex., baixa concentração de íons cálcio no compartimento extracelular), o PTH pode ser liberado diretamente das células-chefe sem ser armazenado nos grânulos secretores.

Controle da secreção do hormônio da paratireoide As glândulas da paratireoide têm o *feedback* controlado pelas concentrações séricas de íon cálcio (e, em menor extensão, magnésio). O Ca^{+2} sérico liga-se ao receptor de cálcio na célula-chefe, permitindo a regulação do funcionamento dessa célula. A concentração sanguínea de fósforo não tem influência regulatória direta na síntese e na secreção de PTH; no entanto, um nível elevado de fósforo no sangue pode indiretamente estimular a paratireoide pela diminuição da forma ativa de vitamina D [1,25-(OH_2)– colecalciferol] e, assim, reduzir a taxa de absorção de cálcio intestinal e seus níveis séricos.

Dano à paratireoide induzido por xenobióticos químicos

Ozônio De 1 a 5 dias após a exposição ao ozônio, muitas células-chefe sofrem hipertrofia ou hiperplasia compensatória com áreas de proliferação de células endoteliais capilar, edema intersticial, degeneração do endotélio vascular, formação de trombos plaquetários, infiltração leucocitária das paredes dos vasos maiores da glândula e desregulação das membranas basais. Células-chefe inativas, com poucos grânulos secretórios, predominam na paratireoide nos estágios mais tardios da exposição ao ozônio.

Alumínio Pacientes com dano renal crônico tratados por hemodiálise com fluidos contendo alumínio ou pela administração oral de fármacos que contenham o elemento apresentaram, com frequência, níveis normais ou pequena elevação do hormônio da paratireoide imunorreativo (iPTH), fraca evidência histológica de osteíte fibrosa e resposta deprimida da glândula paratireoide a hipocalcemia aguda. O alumínio parece reduzir a síntese de diglicerídeos, o que reflete na correspondente diminuição da síntese de fosfatidilcolina e triglicerídeos.

L-asparaginase As células-chefe da paratireoide parecem ser destruídas seletivamente pela L-asparaginase. Essas células apresentaram-se predominantemente inativas e degranuladas, com grandes vacúolos autofágicos presentes no citoplasma das células degeneradas. As organelas citoplasmáticas relacionadas à síntese e ao acondicionamento dos produtos a serem secretados encontravam-se pouco desenvolvidas nas células-chefe. Ensaios realizados com coelhos expostos a L-asparaginase mostraram o desenvolvimento de hiperfosfatemia, hipomagnesemia, hipercalemia, azotemia e hipocalcemia aguda. O desenvolvimento de hipocalcemia e tetania é comum em coelhos, mas alguns pacientes recebendo esses fármacos também apresentaram hipocalcemia.

Lesões proliferativas das células-chefe da paratireoide

Adenomas da paratireoide são nódulos solitários claramente demarcados pelo parênquima paratireoidiano adjacente. Em geral, nos estudos de toxicidade crônica, os adenomas são inativos endocrinologicamente nos ratos adultos. As glândulas da paratireoide que não apresentam o adenoma funcional também sofrem atrofia trófica em resposta à hipercalcemia.

Poucos agentes químicos ou manipulações experimentais aumentam a incidência de tumores da paratireoide. Adenomas de paratireoide foram pouco observados, em estudos crônicos, após a administração do praguicida rotenona a ratos Fischer. A irradiação aumenta significativamente a incidência de adenomas de paratireoide em ratos albinos Wistar consanguíneos.

TESTÍCULOS

Estrutura e regulação endócrina das células (intersticiais) de Leydig

Os tumores de células (intersticiais) de Leydig encontram-se entre os mais frequentes tumores endócrinos observados nos estudos de carcinogenicidade com roedores. Em contraste, a ocorrência da doença no homem é extremamente rara, da ordem de 1 em 5 milhões, com maior incidência nas idades de 30 e 60 anos. As neoplasias testiculares mais comuns e importantes no homem têm origem nas células germinativas (p. ex., seminona). Para comparação, tumores de células germinativas são raros em roedores tanto como lesões espontâneas quanto em virtude de exposição a altas doses de xenobióticos.

A regulação endócrina das células de Leydig envolve atividade coordenada do hipotálamo e da hipófise anterior com *feedback* negativo exercido pela concentração sanguínea dos esteroides gonadais (Fig. 21.8). O hormônio hipotalâmico liberador de gonadotrofina (GnRH) estimula a liberação cíclica de LH e FSH pela adeno-hipófise. O LH é o principal fator trófico de controle da atividade das células de Leydig e da síntese de testosterona. Os níveis sanguíneos de testosterona exercem regulação negativa no hipotálamo e, em menor extensão, na adeno-hipófise. O FSH liga-se aos receptores nas células de Sertoli nos túbulos seminíferos e, juntamente com a concentração de testosterona, é fundamental na espermogênese. A testosterona, por controlar a liberação de GnRH, é um regulador importante da secreção de FSH pela glândula hipófise. Os túbulos seminíferos também produzem um glicopeptídeo, denominado inibina, que exerce regulação negativa na liberação de FSH.

Patologia dos tumores das células (intersticiais) de Leydig

Para padronizar a classificação das lesões proliferativas focais das células de Leydig em estudos com diferentes xenobióticos e realizados por diferentes laboratórios, os seguintes critérios diagnóstico foram estabelecidos: (1) a hiperplasia foi definida como uma coleção focal de células de Leydig com ligeira atipia e diâmetro menor do que de um túbulo seminífero; (2) o adenoma foi definido como uma massa de células de Leydig maior em diâmetro do que um túbulo seminífero com algumas células atípicas e compressão dos túbulos adjacentes.

Mecanismos de desenvolvimento de tumor de células (intersticiais) de Leydig

Mecanismos patogênicos importantes no desenvolvimento de lesões proliferativas de células de Leydig incluem irradiações, diferenças inter e intraespécies, mencionadas previamente, criptorquidismo, comprometimento do suprimento de sangue para os testículos ou heterotransplante de baço. Desequilíbrios hormonais incluem aumento de esteroides estrogênicos em camundongos e *hamsters* e elevação de gonadotrofinas da hipófise resultante da administração crônica de antagonistas de receptores androgênicos, inibidores da 5α-redutase, agonistas do GnRH e inibidores da aromatase. A perda do controle do *feedback* ne-

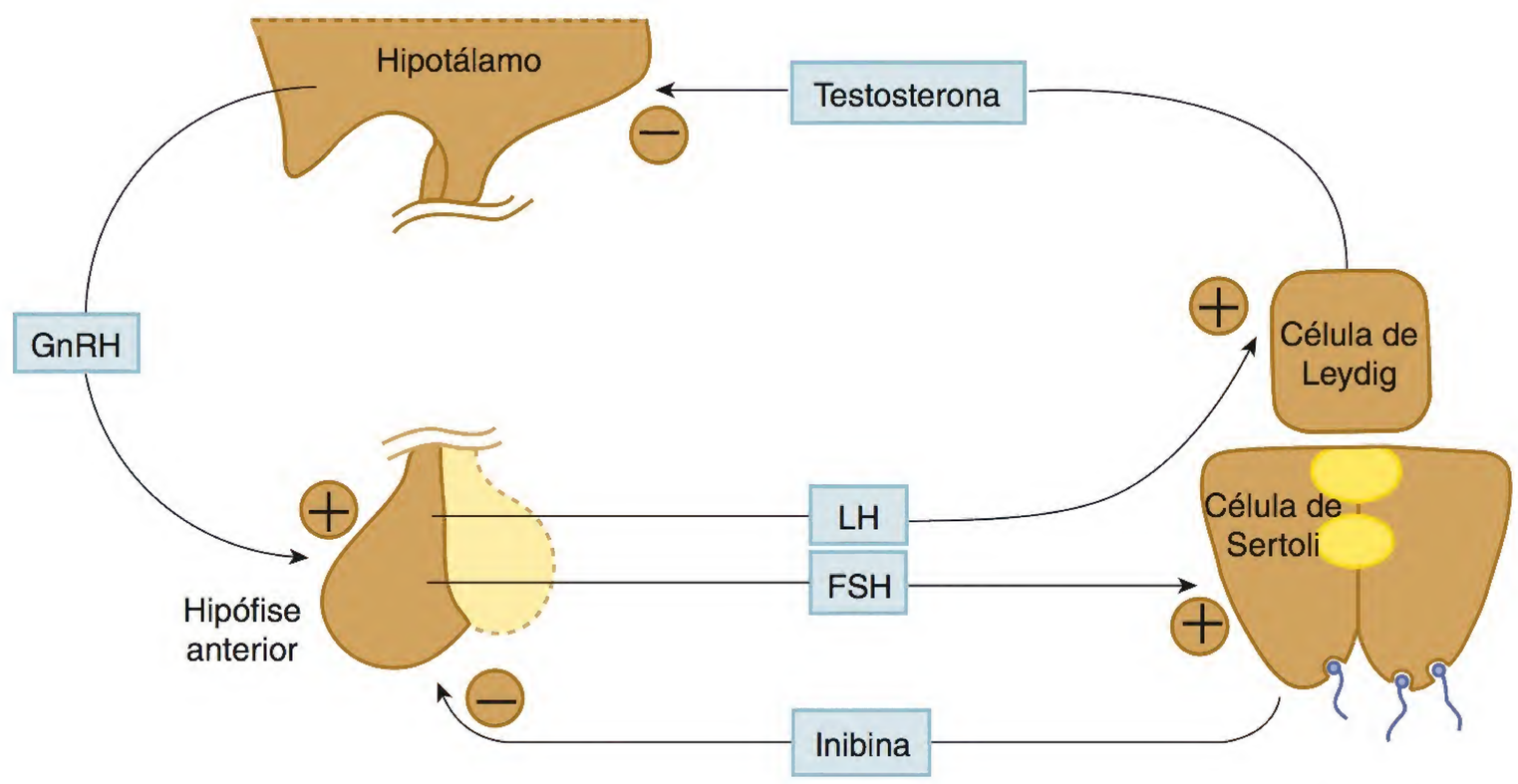


FIGURA 21.8 Eixo hipotálamo-glândula hipófise anterior-gônada no controle endócrino das células de Leydig e de Sertoli pelos hormônios luteinizante (LH) e folículo-estimulante (FSH).

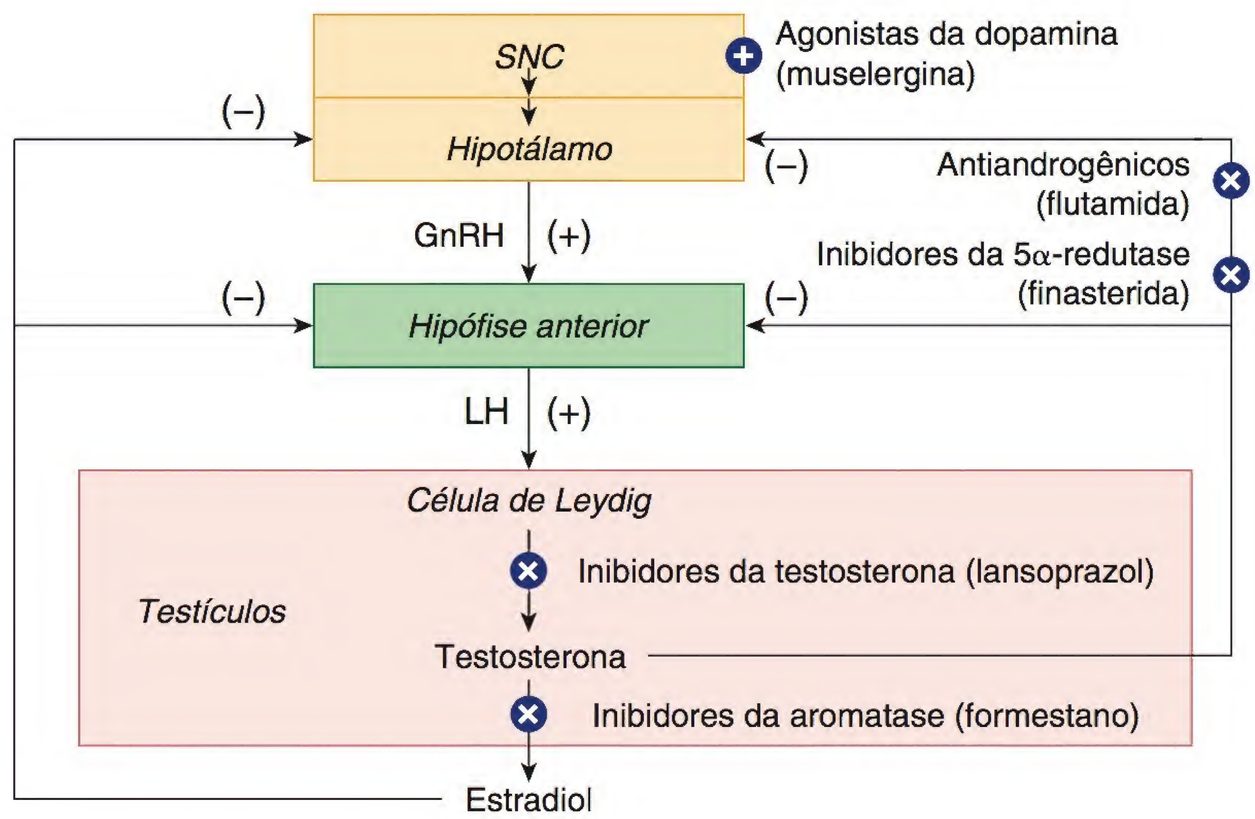


FIGURA 21.9 Regulação do eixo hipotalâmico-hipófise-testículos e pontos de controle da potencial desregulação por xenobióticos. Símbolos: (+) estimulação do *feedback*; (-) inibição do *feedback*; (+) estimulação do receptor (x) inibição enzimática ou do receptor. (Modificada com permissão de Cook JC, et al: Rodent Leydig cell tumorigenesis: a review of the physiology, pathology, mechanisms, and relevance to humans, Crit Rev Toxicol 29(2): 169-261, 1999.)

gativo e a resultante superprodução de LH causam alterações proliferativas nas células de Leydig (Fig. 21.9). Os xenobióticos que aumentam a incidência de lesões proliferativas nas células de Leydig nos estudos de carcinogenicidade crônica em ratos estão listados na Tabela 21.1.

TABELA 21.1 Exemplos selecionados de fármacos que aumentam a incidência de lesões proliferativas de células de Leydig em estudos crônicos com ratos ou camundongos

Fármaco	Espécie	Indicação clínica
Indometacina	Rato	Anti-inflamatório
Lactitol	Rato	Laxante
Metronidazol	Rato	Bactericida
Muselergine	Rato	Antiparkinsoniano
Buserelina	Rato	Carcinoma mamário e prostático, endometriose
Cimetidina	Rato	Redução da secreção de ácido gástrico
Flutamida	Rato	Carcinoma prostático
Genfibrozila	Rato	Hipolipidemia
Espironolactona	Rato	Diurético
Nararelin	Rato	Análogo LHRH
Tamoxifeno	Camundongo	Antiestrogênico
Vidarabina	Rato	Antiviral
Clofibrato	Rato	Hipolipidemia
Finasterida	Camundongo	Hiperplasia prostática

Embora diversos casos de desregulação hormonal resultem no aumento da incidência dos tumores de células de Leydig em roedores, no homem, diversas patologias associadas à elevação sérica crônica de LH (incluindo síndrome de Klinefelter e adenomas gonadotróficos de glândula hipófise) não foram relacionadas a aumento no desenvolvimento desse tipo raro de tumor testicular. Da mesma forma, compostos semelhantes aos listados na Tabela 21.1 não determinaram aumento na incidência de neoplasia nas células de Leydig de seres humanos. Em resumo, tumores de células de Leydig ocorrem com frequência em ratos, geralmente associados a mecanismos de desregulação hormonal; no entanto, não são um modelo adequado de avaliação de risco do desenvolvimento desse tumor testicular para o sexo masculino humano.

OVÁRIO

Tumores ovarianos em roedores podem ser subdivididos em tumores epiteliais, tumores de estroma ovariano do tipo cordão-sexual, tumores de células germinativas, tumores derivados dos tecidos moles ovarianos não especializados e tumores ovarianos decorrentes da metástase de locais distantes (metastáticos). Tumores epiteliais de ovário incluem cistoadenomas e cistoadenocarcinomas, adenomas túbulo estromais e mesotelioma. Os adenomas tubulares são os principais tumores ovarianos em camundongos; são incomuns em ratos, raros em outras espécies animais e não observados em mulheres.

Tumores ovarianos derivados dos cordões sexuais e/ou do estroma ovariano incluem tumores de células granulosas, lute-

omas, tecomas, tumores de célula de Sertoli, adenoma tubular (com contribuições do estroma ovariano) e tumores indiferenciados do cordão sexual-estromal. O mais comum desse grupo é o tumor de células granulosas, com ocorrência espontânea equivalente a aproximadamente 27% dos tumores ovarianos em camundongos. Tumores de células granulosas podem se desenvolver dentro de certos adenomas tubulares ou túbulo estromais em consequência de desregulação crônica da função endócrina associada com deleção gênica, irradiação, substâncias oocitotóxicas e timectomia neonatal.

Tumores ovarianos associados a xenobióticos

Nitrofurantoína Estudos com camundongos expostos a doses elevadas de nitrofurantoína na ração durante 2 anos demonstraram aumento na incidência de tumores ovarianos do tipo tubular ou túbulo estromais. A substância provocou esterilidade em virtude da destruição dos folículos ovarianos e subsequente desregulação hormonal. Os camundongos expostos ao agente apresentaram alteração consistente no córtex ovariano, denominada *atrofia ovariana*, caracterizada por ausência dos folículos graafianos, desenvolvimento do óvulo e corpo lúteo; hiperplasia difusa ou focal; e número variável de células estromais, poligonais e frequentemente vacuoladas, derivadas do cordão sexual dentro da estrutura tubular. Os ovários apresentaram-se pequenos, com superfícies irregulares e células estromais eosinofílicas dispersas dentro da estrutura tubular.

Moduladores seletivos dos receptores estrogênicos Moduladores seletivos dos receptores estrogênicos (SERMs) apresentam efeitos estrogênicos agonistas em alguns tecidos e ação antagonista estrônica em outros. O SERM tamoxifeno tem efeito antagonista estrogênico nas mamas e agonista nos ossos, além de poder estimular também o endométrio uterino. O SERM raloxifeno apresenta efeito agonista estrogênico nos ossos e nos lipídeos séricos, mas ação antagonista no útero e nas mamas. Foi relatado que o tamoxifeno, o toremifeno e o raloxifeno aumentam a incidência de tumores ovarianos na administração crônica a camundongos.

Resumo: tumorigênese ovariana em roedores

A análise da literatura considera a hipótese de que a intensa hiperplasia do epitélio superficial ovariano e das células estromais, provocando, por fim, adenomas tubulares e, às vezes, tumores de células granulosas, desenvolve-se secundariamente à estimulação crônica dos hormônios gonadotróficos da hipófise (Fig. 21.10). Os fatores que destroem ou diminuem de maneira preponderante o número de folículos ovarianos – tais como senescência, deleção genética dos folículos, raio X, fármacos, nitrofurantoína, timectomia precoce com desenvolvimento de autoanticorpos contra oócitos – reduzem a secreção de hormônios esteroides sexuais pelos ovários. Isso resulta na elevação dos níveis circulantes de gonadotrofinas, em especial LH, devido ao decréscimo da regulação negativa do eixo hipotalâmico-hipófise pelos estrogênios e possivelmente de outros fatores humorais produzidos pelos folículos graafianos. A estimulação crônica de células (intersticiais) estromais que apresentam receptores para LH e, indiretamente, o epitélio superficial ovariano parece aumentar o risco de desenvolvimento de adenomas tubular e túbulo-estromal.

Estudos utilizando camundongos mutantes estéreis confirmam a hipótese de que um mecanismo secundário (hormônio mediado) esteja envolvido na carcinogênese ovariana. Múltiplos fatores patogênicos que destroem ou diminuem o número de folículos graafianos no ovário resultam no decréscimo da secreção de hormônios sexuais (em especial estradiol 17β), determinando uma superprodução compensatória de gonadotrofinas da hipófise (particularmente LH) (Fig. 21.10),

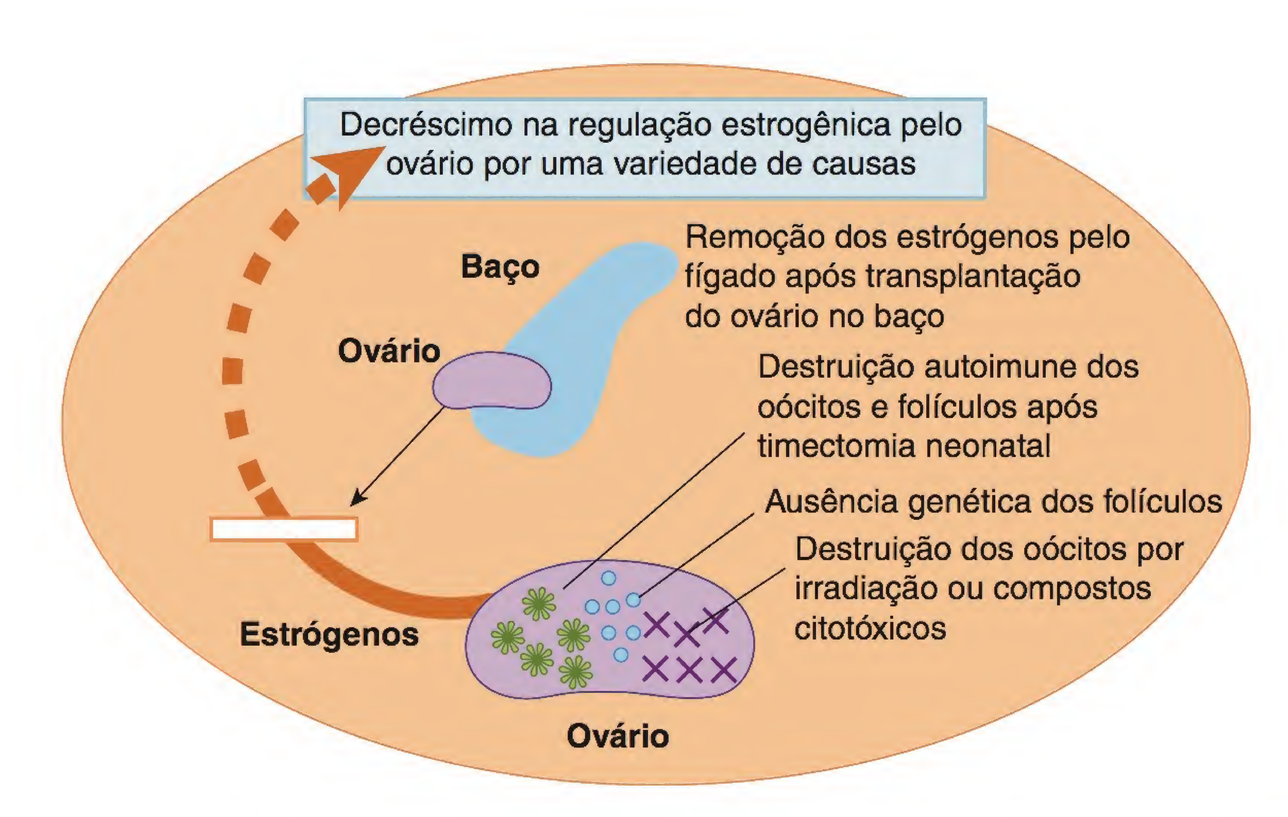


FIGURA 21.10 Múltiplos mecanismos patogênicos da tumorigênese ovariana em camundongos resultando no decréscimo do *feedback* negativo decorrente da diminuição dos níveis de esteroides gonadais, particularmente de estrógeno.

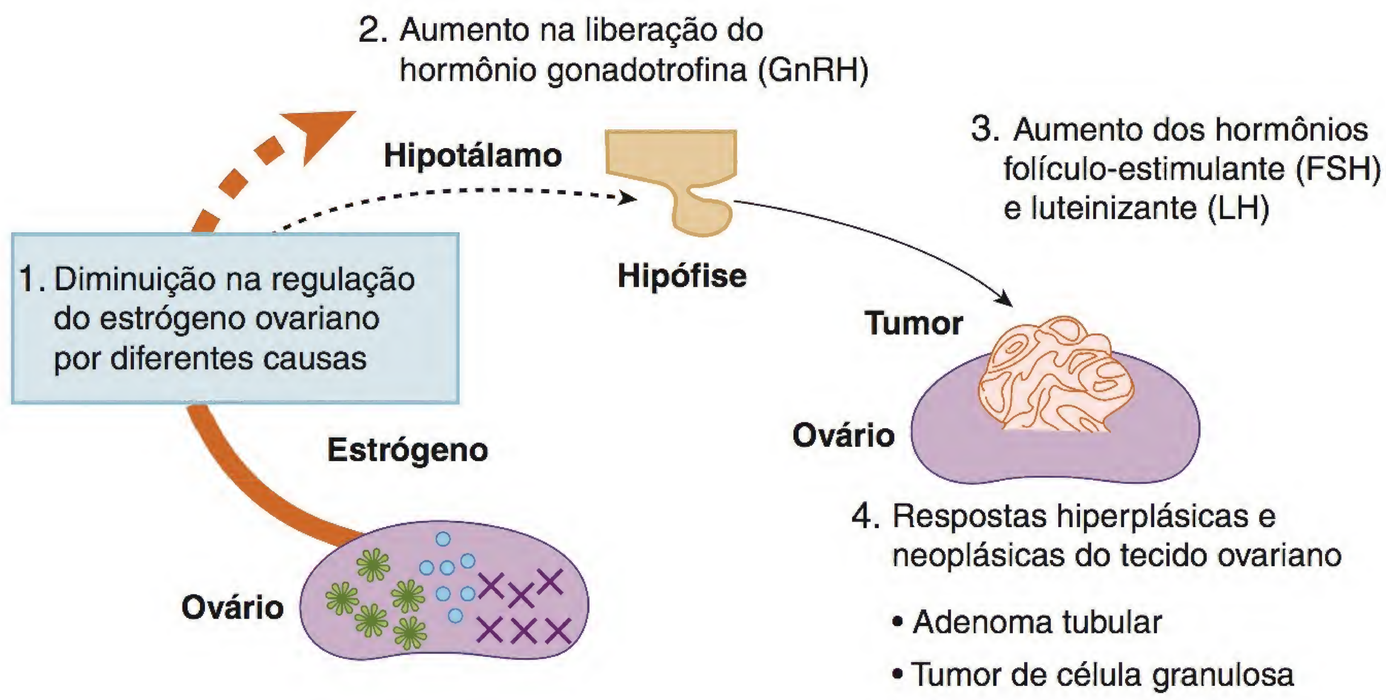


FIGURA 21.11 Diminuição de estrógenos circulantes liberados pelo hipotálamo-glândula hipófise em virtude da inibição do *feedback* negativo. Nos estudos crônicos, o aumento dos níveis de gonadotrofinas (LH e FSH) resulta no incremento do risco de desenvolvimento de adenomas tubulares em ovários de camundongos.

o que submete o ovário de camundongo a um risco crescente de desenvolvimento de tumores (Fig. 21.11). A intensa proliferação das células ovarianas estromais e do epitélio superficial com o desenvolvimento de adenomas tubulares típicos em resposta à esterilidade parece não ocorrer em ovários humanos de mulheres adultas.

REFERÊNCIAS

Eldridge JC, Stevens JT: *Endocrine Toxicology*, 3rd ed. London: Informa Healthcare, 2009.

Gardner DG, Shoback DM, Greenspan FS: *Greenspan's Basic and Clinical Endocrinology*. New York: McGraw-Hill, 2007.

Harvey PW, Everett DJ, Springall CJ (eds): *Adrenal Toxicology*. New York: Humana Healthcare, 2009.

QUESTÕES

1. A inabilidade de liberação hormonal pela hipófise anterior NÃO afetaria a liberação de qual dos seguintes hormônios?
   a. LH
   b. PRL
   c. ADH
   d. TSH
   e. ACTH

2. Qual das afirmativas sobre os hormônios hipofisários é VERDADEIRA?
   a. O sistema porta hipotalâmico-hipofisário transporta os hormônios liberados para a neuro-hipófise.
   b. A dopamina aumenta a secreção de prolactina pela hipófise anterior.
   c. A somatostatina inibe a liberação de GH.
   d. A função dos cromófobos na hipófise anterior é desconhecida.
   e. Ocitocina e ADH são sintetizados pelos núcleos hipotalâmicos.

3. A deficiência de 21-hidroxilase causa masculinização da genitália feminina ao nascer em decorrência do aumento de secreção de androgênios em qual região das glândulas adrenais?
   a. Zona glomerulosa
   b. Zona reticular
   c. Medula da adrenal
   d. Zona fasciculada
   e. Células cromafins

4. Qual das afirmativas sobre a toxicidade da glândula adrenal é VERDADEIRA?
   a. O córtex e a medula da adrenal são igualmente suscetíveis a toxicantes lipossolúveis.
   b. As células corticais da adrenal não apresentam as enzimas necessárias para biotransformar xenobióticos.
   c. Os feocromocitomas da medula adrenal podem provocar pressão sanguínea elevada e pele úmida devido ao aumento na liberação de adrenalina.
   d. Os xenobióticos primeiramente afetam as enzimas hidroxilases da zona reticular.
   e. A vitamina D é um estimulante importante para a secreção dos esteroides pelo córtex adrenal.

5. O bloqueio químico do transporte de iodo pela glândula tireoide:
   a. Afeta a liberação de T_3 e T_4.
   b. Evita a redução do I_2 pela tireoperoxidase.
   c. Diminui a liberação de TRH pelo hipotálamo.
   d. Interrompe a biossíntese intracelular tireoidiana.
   e. Imita o bócio.

6. Células cromafins da glândula adrenal são responsáveis pela secreção de qual dos hormônios a seguir?
   a. Aldosterona
   b. Adrenalina
   c. Corticosterona
   d. Testosterona
   e. Estradiol

7. As células parafoliculares da glândula tireoide são responsáveis pela secreção de um hormônio que:
   a. Aumenta os níveis sanguíneos de glicose.
   b. Diminui os níveis plasmáticos de sódio.
   c. Aumenta o armazenamento de cálcio.
   d. Diminui a taxa metabólica.
   e. Aumenta a reabsorção óssea.

8. Adenomas da paratireoide resultantes de níveis elevados de PTH deveriam provocar qual das seguintes alterações?
   a. Hipocalcemia
   b. Hiperfosfatemia
   c. Aumento da formação óssea
   d. Osteoporose
   e. Raquitismo

9. Qual das seguintes vitaminas aumenta a absorção de cálcio e fosfato no intestino?
   a. Vitamina D
   b. Niacina
   c. Vitamina A
   d. Vitamina B_{12}
   e. Tiamina

10. Todas as afirmativas relacionadas à formação de tumor ovariano são verdadeiras, EXCETO:
   a. Muitos tumores ovarianos desenvolvem-se secundariamente à estimulação crônica de GnRH.
   b. A secreção aumentada dos hormônios esteroides sexuais ovarianos é um fator de risco para câncer de ovário.
   c. Demonstrou-se que o tamoxifeno aumenta a incidência de tumores ovarianos em camundongos.
   d. Uma diminuição no número de folículos graafianos resulta no decréscimo da secreção de estrógeno e progesterona.
   e. O epitélio germinal que envolve o ovário é um local comum de ocorrência de tumores.

UNIDADE V AGENTES TÓXICOS

CAPÍTULO

22

Efeitos Tóxicos dos Praguicidas

Lucio G. Costa

INTRODUÇÃO

FATORES ECONÔMICOS E SAÚDE PÚBLICA
- Uso dos praguicidas
- Exposição
- Intoxicação humana
- Regulamentações

INSETICIDAS
- Compostos organofosforados
  - Biotransformação
  - Sinais e sintomas de intoxicação e mecanismo de ação
  - Tratamento da intoxicação
  - Síndrome intermediária
  - Polineuropatia retardada induzida por organofosforado (NRIOP)
  - Toxicidade crônica
- Carbamatos
- Piretroides
  - Sinais e sintomas de intoxicação e mecanismo de ação
- Compostos organoclorados
  - DDT e seus análogos
  - Hexaclorociclohexanos e ciclodienos
- Outros inseticidas novos e antigos
  - Rotenoides
  - Nicotina
  - Avermectinas

REPELENTES DE INSETOS

HERBICIDAS
- Compostos clorofenoxi
- Compostos bipiridílicos
- Cloroacetanilidas
- Triazinas
- Aminoácidos fosfonometil
  - Glifosato
  - Glifosinato

FUNGICIDAS
- Captan e folpet
- Ditiocarbamatos
- Fungicidas inorgânicos e organometálicos

RODENTICIDAS
- Ácido fluoroacético e derivados
- Anticoagulantes

FUMIGANTES
- Brometo de metila
- 1,3-Dicloropropeno
- Enxofre

PONTOS-CHAVE

- Praguicidas são definidos como qualquer substância ou mistura de substâncias usadas com a intenção de prevenir, destruir, repelir, mitigar qualquer praga.
- A exposição a praguicidas inclui: (1) intoxicação acidental ou em tentativas de suicídio; (2) exposição ocupacional (produção, mistura/carregamento, aplicação, colheita e manuseio das culturas); (3) exposição de indivíduos em áreas não alvo em função de deriva do praguicida em operações de pulverização; e (4) a população que consome alimentos contendo resíduos de praguicidas.
- Inseticidas químicos usados atualmente agem no sistema nervoso de organismos-alvo.
- Herbicidas são compostos capazes de matar ou produzir danos a plantas.
- Fungicidas são quaisquer agentes químicos capazes de prevenir o crescimento e a reprodução de fungos.

INTRODUÇÃO

Praguicidas podem ser definidos como qualquer substância ou mistura de substâncias introduzidas deliberadamente no ambiente com a intenção de prevenir, destruir, repelir ou mitigar pragas. Os praguicidas podem ser mais especificamente identificados como inseticidas (insetos), herbicidas (ervas daninhas), fungicidas (fungos e bolores), rodenticidas (roedores), acaricidas (ácaros), moluscicidas (caracóis e outros moluscos), larvicidas (larvas) e pediculicidas (piolhos). Além desses termos, existem, para fins regulatórios, outros, como reguladores de crescimento de plantas, repelentes e atractantes (ferormônios), que são também incluídos em uma classificação mais ampla dos praguicidas.

FATORES ECONÔMICOS E SAÚDE PÚBLICA

Ao se considerar o uso de praguicidas, devem-se equilibrar os benefícios *versus* os riscos de possível dano à saúde humana ou a degradação da qualidade ambiental. Os praguicidas desempenham um papel extremamente importante no controle de vetores transmissores de doenças, que, por sua vez, representam um grande risco à saúde da população. O DDT, ao ser introduzido em 1942, aparentava ser muito promissor ao beneficiar a agricultura e a saúde pública, por controlar doenças causadas por insetos. Entretanto, devido à bioacumulação ambiental e aos seus efeitos na reprodução de aves, foi banido na maioria dos países em meados de 1970. Na África do Sul, quando o DDT foi banido, em 1996, foram registrados menos de 10 mil casos de malária. Em 2000, o número de casos da doença aumentou para 62 mil, porém, com a reutilização do DDT, no final daquele ano, os casos diminuíram para 12.500.

As perdas excessivas de alimentos cultivados, em função da ação de insetos e outras pragas, contribuem para perdas econômicas e, possivelmente, para a disseminação da fome no mundo. Em países desenvolvidos, o uso de praguicidas facilita a produção de frutas e vegetais, bem como de cereais de boa qualidade, a bom preço e em abundância. Com os inseticidas, os herbicidas e os fungicidas desempenham um papel importante na tentativa de se obterem boas colheitas.

Uso dos praguicidas

Nos últimos 20 anos, o uso de praguicidas (considerado como quantidade de ingrediente ativo) vem se mantendo no mesmo patamar. Os praguicidas frequentemente, senão sempre, são usados em formulações contendo diversos compostos, nas quais os ingredientes ativos presentes se encontram acompanhados de outros ingredientes que facilitam sua mistura, diluição, aplicação e estabilidade. Esses outros ingredientes são agrupados sob o termo "inerte" ou "outros". Embora não apresentem ação praguicida, tais ingredientes inertes nem sempre são destituídos de toxicidade; assim, é tarefa permanente de produtores e agências regulatórias assegurar que esses compostos não representem qualquer risco inaceitável de efeitos adversos à saúde.

Exposição

A exposição aos praguicidas pode ocorrer por via oral, dérmica ou inalatória. Altas doses por via oral, levando a grave intoxicação e morte, podem advir da ingestão intencional de praguicidas visando ao suicídio, ou da ingestão acidental, geralmente devido ao armazenamento desses compostos em embalagens inadequadas. No entanto, doses pequenas, crônicas, são consumidas pela população, como resíduos de praguicidas em alimentos e como contaminantes presentes na água. Existem legislações que asseguram que os resíduos de praguicidas devem ser mantidos em concentrações inferiores àquelas que possam causar qualquer efeito adverso. Os indivíduos que apresentam maior risco de exposição aos praguicidas são os trabalhadores envolvidos na produção, no transporte, na mistura e no carregamento e na aplicação desses compostos, bem como os que trabalham na colheita de lavouras pulverizadas com os praguicidas. A exposição dérmica pode ocorrer durante o manuseio e a aplicação desses produtos ou, ainda, em casos de derramamento acidental, em áreas corpóreas não cobertas por roupas ou equipamentos de proteção, tais como a face e as mãos, ou por inalação. Além disso, os praguicidas depositados nas roupas podem ser absorvidos pela pele e/ou podem permitir a exposição de outros indivíduos, se essas roupas não forem substituídas e lavadas após a exposição.

Intoxicação humana

Os praguicidas nem sempre são seletivos para as espécies-alvo, e os efeitos adversos à saúde podem ser observados em espécies não alvo e em seres humanos. A preocupação em relação aos efeitos adversos na população e em trabalhadores expostos ocupacionalmente em geral varia desde os efeitos agudos observados em intoxicação humana a associações possíveis entre a exposição aos praguicidas e o aumento do risco de câncer. Por conta dos di-

TABELA 22.1 Classificação da Organização Mundial da Saúde dos praguicidas por grau de toxicidade

		DL_{50} em ratos (mg/kg peso corporal)			
		Oral		Dérmica	
Classe		Sólidos	Líquidos	Sólidos	Líquidos
Ia	Extremamente tóxico	5 ou menos	20 ou menos	10 ou menos	40 ou menos
Ib	Altamente tóxico	5-50	20-200	10-100	40-400
II	Moderadamente tóxico	50-500	200-2.000	100-1.000	400-4.000
III	Levemente tóxico	Acima de 500	Acima de 2.000	Acima de 1.000	Acima de 4.000
IV+	Pouco provável que apresente toxicidade em condições normais	Acima de 2.000	Acima de 3.000	Acima de 4.000	Acima de 6.000

versos casos de intoxicação e de cerca de 200 mil mortes, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que os praguicidas sejam classificados por grau de toxicidade, estabelecido com base em testes de toxicidade oral e dérmica em ratos (Tab. 22.1)

TABELA 22.2 Testes básicos de toxicologia necessários ao registro de praguicidas

Testes	Espécies animais *
Letalidade aguda (oral, dérmica, inalatória)	Ratos, camundongos, porquinhos-da-índia, coelhos
Irritação dérmica	Coelhos, ratos, porquinhos-da-índia
Sensibilização dérmica	Porquinhos-da-índia
Irritação ocular	Coelhos
Neurotoxicidade aguda retardada	Galinhas
Estudos de genotoxicidade (*in vitro, in vivo*)	Bactérias, células de mamíferos, camundongos, ratos e *Drosophila*
Teratogenicidade	Coelhos, roedores (camundongos, ratos, *hamster*)
Estudos de toxicidade de 2 a 4 semanas (oral, dérmica, inalatória)	Ratos, camundongos
Estudos de toxicidade de 90 dias (oral)	Ratos
Estudos de toxicidade crônica (oral; 6 meses a 2 anos)	Ratos, cães
Estudos de carcinogenicidade	Ratos, camundongos
Estudos de reprodução/ fertilidade	Ratos
Estudos de neurotoxicidade no desenvolvimento embrionário e fetal	Ratos

* Muitos esforços têm sido feitos no sentido de se desenvolverem sistemas de teste alternativos ao uso de animais. Em 2006, apenas um teste *in vitro* (de irritação primária) foi validado e aceito para uso pelas agências reguladoras da EU (OCDE – Organização para Cooperação e Desenvolvimento Econômico).

Regulamentações

Nos Estados Unidos, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) regulamenta o uso de praguicidas de acordo com as leis Federal Insecticide, Fungicide e Rodenticide Act (FIFRA) e Federal Food, Drug and Cosmetic Act (FFDCA). Autorizado com a FIFRA, a EPA registra o uso de praguicidas, enquanto com a FFCDA, a EPA estabelece os limites máximos de resíduos de praguicidas (tolerâncias) em alimentos e ração animal, os quais são aplicados por outras agências federais dos EUA.

A legislação Food Quality & Protection Act (Lei da qualidade e proteção dos alimentos) estabelece que a EPA tem a obrigação de avaliar o risco dos praguicidas a lactentes e crianças, com base nos padrões de consumo diário dos alimentos, da possível suscetibilidade infantil aos praguicidas e efeitos acumulativos dos compostos que apresentem o mesmo mecanismo de ação tóxica. Podem ser encontradas outras legislações pertinentes a praguicidas, como a Safe Drinking Water Act (Lei da água potável) ou a Clean Air Act (Lei da qualidade do ar puro).

De acordo com o FIFRA, todos os praguicidas comercializados e distribuídos nos EUA devem ser registrados na EPA. O registro de um praguicida ou de um produto formulado inclui a apresentação de resultados de um grande número de estudos toxicológicos (mais de 140), um processo que leva diversos anos e cujos custos ficam entre 50 e 100 milhões de dólares. Os dados necessários incluem as informações sobre o produto e seus resíduos químicos, destino ambiental, dados toxicológicos, biotransformação/degradação do produto, exposição ocupacional e formas de proteção nos casos de reentrada em local onde ocorreu a aplicação do praguicida, desvio da pulverização ocasionado por ventos, impacto ambiental em organismos não alvo (pássaros, mamíferos, organismos aquáticos, plantas e solo), persistência ambiental e bioacumulação, bem como eficácia e desempenho dos praguicidas. A Tabela 22.2 apresenta os testes toxicológicos necessários ao registro de novos praguicidas.

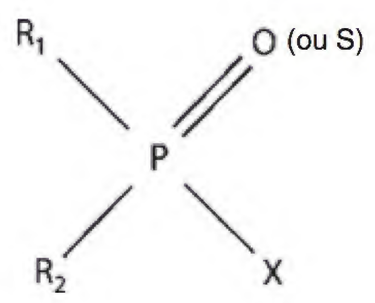
Outros países, como Canadá, Japão e grande parte da Europa, têm procedimentos semelhantes para o registro de praguicidas. A União Europeia (UE) criou uma estrutura harmonizada que regulamenta esses produtos. A OMS orienta esses órgãos, particularmente no que se refere ao estabelecimento dos valores de Ingesta Diária Aceitável (IDA) para os praguicidas.

INSETICIDAS

Particularmente em países em desenvolvimento, os inseticidas desempenham um papel de extrema relevância no controle de insetos considerados pragas. Todos os inseticidas químicos usados atualmente são neurotóxicos e agem no sistema nervoso dos organismos-alvo (Tab. 22.3). O sistema nervoso central dos insetos é altamente desenvolvido e não muito diferente do de mamíferos. Enquanto classe de compostos, os inseticidas apresentam alta toxicidade aguda para animais não alvo quando comparados com outras classes de praguicidas. Alguns deles, mais precisamente os organofosforados, são os responsáveis, a cada ano, por um grande número de intoxicações humanas e mortes.

Compostos organofosforados

Os compostos organofosforados (OFs) apresentam, em geral, a seguinte estrutura:



X é o grupo que se separa do composto quando os OF fosforilam a enzima acetilcolinesterase (AChE), e é o local mais sensível à hidrólise; R_1 e R_2 são comumente grupos alcóxi (p. ex., OCH_3 ou OC_2H_5), embora possam existir outros grupos substituintes; nessa estrutura química podem estar ligados por dupla ligação ao fósforo tanto um átomo de oxigênio (O) quanto um de enxofre (S) (nesse caso, o composto pode ser identificado como fosforotioato). A partir de diferenças químicas, os OFs podem ser divididos em diversas subclasses, que incluem os fosfatos, os fosforotioatos, os fosforamidatos, os fosfonatos, entre outros. A Figura 22.1 ilustra as estruturas químicas de alguns dos OFs mais usados rotineiramente.

TABELA 22.3 Alvos moleculares das classes de inseticidas mais importantes

Alvo	Inseticida	Efeito
Acetilcolinesterase	Organofosforados Carbamatos	Inibição Inibição
Canais de sódio	Piretroides (tipos I e II) DDT Diidropirazóis	Ativação Ativação Inibição
Receptores de acetilcolina nicotínica	Nicotina Neonicotinoides	Ativação Ativação
Canais de cloro mediados por receptores GABA	Ciclodienos Fenilpirazóis Piretroides (tipo II)	Inibição Inibição Inibição
Canais de cloro mediados por glutamato*	Avermectinas	Ativação
Receptores octopamina**	Formamidinas	Ativação
Complexo mitocondrial I	Rotenoides	Inibição

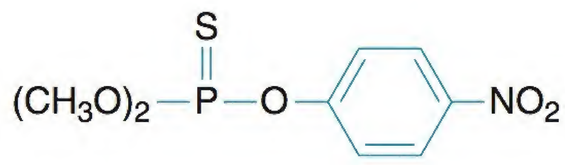
* Encontrado apenas em insetos. Em mamíferos, as avermectinas ativam os receptores $GABA_A$.
** Em mamíferos, as formamidinas ativam os $alfa_2$-adrenoceptores.

Biotransformação Todos os compostos que contêm ligações P=S necessitam de ativação metabólica para que sua atividade biológica se manifeste, uma vez que apenas os compostos com ligações P=O são inibidores da acetilcolinesterase (AChE). A dessulfuração oxidativa (leva a formação de um "oxon", ou oxigênio análogo ao inseticida de origem) e a oxidação tioéter (formação de sulfóxido, S=O, seguida de formação de sulfona, O=S=O) são catalisadas pelas enzimas do citocromo P450. A hidrólise catalítica pelas fosfotriesterases, conhecidas como A-esterases (que não são inibidas pelos OFs), desempenha um papel importante na detoxificação de alguns OFs. Pode, também, ocorrer a hidrólise não catalítica dos OFs, quando esses compostos fosforilam as serina esterases classificadas como B-esterases.

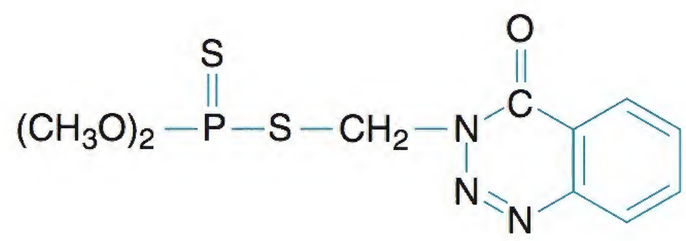
Sinais e sintomas de intoxicação e mecanismo de ação Os inseticidas OFs apresentam alta toxicidade aguda, com valores de DL_{50} orais para ratos frequentemente inferiores a 50 mg/kg. A inibição da AChE pelos OFs leva ao acúmulo da acetilcolina nas sinapses colinérgicas e à estimulação exacerbada dos receptores colinérgicos muscarínicos e nicotínicos. Uma vez que esses receptores se encontram localizados na maioria dos órgãos do organismo, surge uma "síndrome colinérgica", na qual são observados os seguintes sintomas: sudorese e salivação, grave secreção bronquial, broncoconstrição, miose, motilidade gastrintestinal aumentada, diarreia, tremores, espasmos musculares e diversos efeitos associados ao sistema nervoso central (Tab. 22.4). Embora a insuficiência respiratória seja a marca registrada da intoxicação por inseticidas OFs, no caso de intoxicações leves ou nos estágios iniciais de uma intoxicação grave, nem sempre os sinais e sintomas são evidentes.

Os OFs que apresentam a ligação P=O fosforilam o grupo hidroxila no sítio esterásico ativo da serina na AChE, impedindo sua ação fisiológica. A AChE fosforilada é lentamente hidrolizada pela água, e a taxa de "reativação espontânea" depende da natureza química dos radicais substituintes R na estrutura dos OFs. A reativação da AChE fosforilada não acontece uma vez que o complexo enzima-inibidor "envelheça", o que ocorre quando há perda (por hidrólise não enzimática) de um dos dois grupos alquilas (R). Quando a AChE envelhece, a enzima é considerada inibida de forma irreversível, sendo necessária a síntese de nova enzima, o que requer vários dias para acontecer.

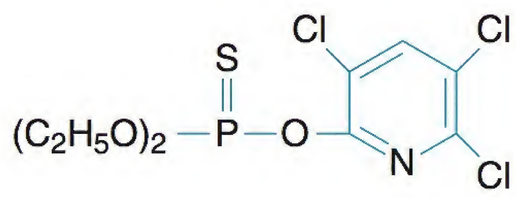
Tratamento da intoxicação A via de exposição determinará os procedimentos a serem utilizados na descontaminação e/ou diminuição da absorção. Nos casos de exposição dérmica, as roupas contaminadas devem ser retiradas, e a pele, lavada com sabão alcalino. Nos casos de ingestão, não são muito eficazes os procedimentos usados na tentativa de minimizar a absorção pelo sistema digestório. O uso da atropina, um antagonista do receptor muscarínico, previne o efeito acumulativo da acetilcolina nesses receptores. A atropina é preferivelmente administrada por via intravenosa, visando prevenir os sinais do excesso da estimulação colinérgica. A administração de pralidoxima (2-PAM) logo após a exposição aos OFs pode evitar o envelhecimento da AChE, porém sua eficácia é controversa. Pode ser usado diazepam para diminuir a ansiedade no caso de intoxicações leves e para reduzir as fasciculações musculares, bem como controlar as convulsões em casos mais graves.



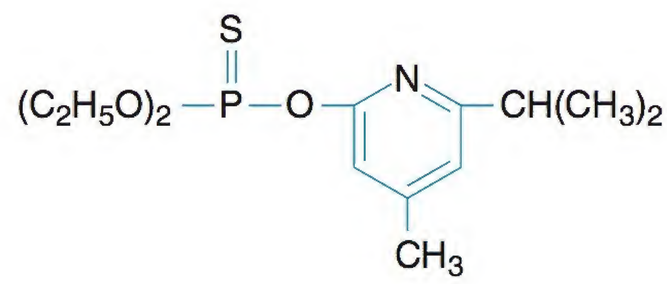
Metilparation



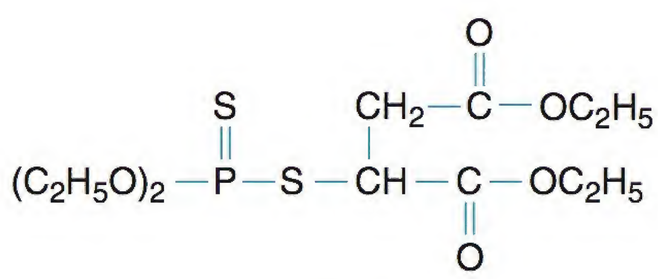
Azinofos Metil



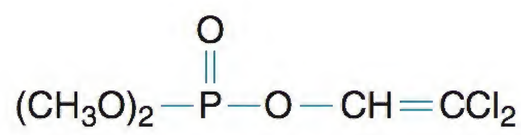
Clorpirifós



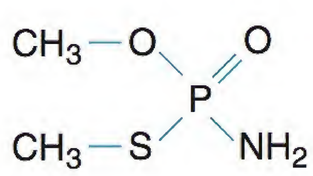
Diazinon



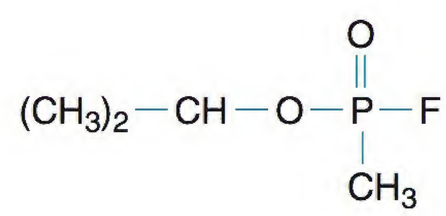
Malation



Diclorvos



Metamidofós



Sarin

FIGURA 22.1 Estruturas químicas de alguns inseticidas organofosforados e do gás sarin. Notar que os compostos mais usados são os organofosforotioatos (i.e., apresentam dupla ligação P=S), porém outros, inclusive o sarin, têm dupla ligação P=O e não requerem ativação metabólica.

TABELA 22.4 Sinais e sintomas da intoxicação aguda por compostos anticolinérgicos

Sítios e receptores afetados	Manifestações
Glândulas exócrinas (M)	Aumento de salivação, lacrimejamento, sudorese
Olhos (M)	Miose, visão turva
Sistema digestório (M)	Cólicas abdominais, vômitos, diarreia
Sistema respiratório (M)	Aumento da secreção bronquial, broncoconstrição
Bexiga (M)	Frequência urinária, incontinência
Sistema cardiovascular (M)	Bradicardia, hipotensão
Sistema cardiovascular (N)	Taquicardia, hipertensão passageira
Musculatura esquelética (N)	Fasciculações musculares, espasmos, cólicas, fraqueza generalizada, paralisia flácida
Sistema nervoso central (M,N)	Tontura, letargia, fadiga, cefaleia, confusão mental, depressão dos centros respiratórios, convulsão, coma

M = receptores muscarínicos; N = receptores nicotínicos.

Síndrome intermediária Um segundo efeito distinto dos OFs é a chamada síndrome intermediária, observada em 20 a 50% dos casos de intoxicação aguda por OFs. A síndrome desenvolve-se depois de 1 ou vários dias da intoxicação, durante o processo de recuperação do quadro colinérgico ou, em alguns casos, quando o paciente se recuperou completamente da crise colinérgica inicial. As características mais evidentes incluem fraqueza respiratória, da musculatura proximal dos membros e do pescoço. A mortalidade acontece em 15 a 40% dos casos devido a paralisia respiratória e outras complicações orgânicas, sendo que, nos indivíduos sobreviventes, a recuperação pode ocorrer em até 15 dias. A síndrome intermediária não é um efeito associado à inibição da AChE, e seu mecanismo de ação ainda é desconhecido.

Polineuropatia retardada induzida por organofosforado (NRIOP) Alguns OFs podem causar NRIOP. Os sinais e sintomas incluem formigamento de mãos e pés seguido de perda sensorial, fraqueza muscular progressiva e flacidez da musculatura esquelética distal das extremidades superiores e inferiores, além de ataxia. Esses sinais e sintomas podem aparecer em 2 a 3 semanas após uma exposição única, quando abrandaram os sinais tanto da síndrome colinérgica aguda quanto da intermediária. A NRIOP pode ser classificada como uma axonopatia distal sensório-motora.

A NRIOP não é relacionável a inibição da atividade da AChE. De fato, um dos compostos sabidamente relacionáveis a diversos casos dessa neuropatia é o orto-cresil fosfato, que, por sua vez, interfere pouco na inibição da AChE. O alvo da NRIOP é uma esterase, presente em tecidos nervosos e em outros tecidos (p. ex., linfócitos), denominada esterase neuropática alvo, ou esterase neurotóxica (NTE). Existem diversos OFs, alguns carbamatos e sulfonil fluoretos que podem inibir a NTE. Outros compostos que também inibem essa esterase, mas não produzem reação de envelhecimento, não são neurotóxicos, o que indica que a inibição da atividade catalítica da NTE não segue o mecanismo de degeneração axonal.

Toxicidade crônica Ainda hoje existe controvérsia sobre os possíveis efeitos crônicos dos OFs. Existe a possibilidade de que a exposição a baixas doses desses compostos, nas quais não há sinais de interferência colinérgica, pode levar a efeitos adversos crônicos, em especial no sistema nervoso central e no periférico. Observou-se que animais expostos cronicamente a OFs, em doses que inibem a AChE de forma significativa, mas que não necessariamente apresentam sinais clínicos dessa inibição, podem desencadear um efeito de tolerância aos efeitos colinérgicos (mediados, pelo menos em parte, pela baixa regulação dos receptores colinérgicos). Essa exposição crônica de animais também vem sendo associada a anomalias neurocomportamentais, sobretudo no que se refere aos aspectos cognitivos.

Carbamatos

Inseticidas carbamatos são derivados do ácido carbâmico e, em sua maioria, são *N*-metilcarbamatos. A toxicidade oral aguda varia de moderada a baixa, como no caso do carbaril, a extremamente tóxica, como no caso da intoxicação por aldicarb. A absorção dérmica dos carbamatos tende a aumentar com solventes orgânicos e emulsificantes presentes na maioria das formulações. Esses compostos são suscetíveis a uma variedade de reações de biotransformação catalisadas enzimaticamente, nas quais as principais vias de biotransformação envolvem a hidrólise e a oxidação. O mecanismo de ação dos carbamatos é a inibição da AChE, rapidamente reversível. Os sinais e sintomas de intoxicação por esses compostos incluem miose, diurese, diarreia, salivação, fasciculação muscular e efeitos no sistema nervoso central (Tab. 22.4). Em geral, a intoxicação aguda por carbamatos desaparece em algumas horas. O tratamento desse tipo de intoxicação requer o uso de atropina. Esses compostos podem inibir a NTE, porém, nesse caso, em que a NTE carbamilada não envelhece, acredita-se que não levem ao aparecimento de NRIOP. Além disso, ao se administrar carbamatos previamente à exposição a inseticidas OFs, aqueles oferecem um efeito protetor contra a NRIOP, porém, em caso contrário, pode-se observar o aparecimento desta.

Os metilcarbamatos não são mutagênicos, e não existe evidência de que promovam carcinogênese. A embriotoxicidade ou fetotoxicidade pode ser observada apenas em casos de doses em que seja manifestada toxicidade materna. Existem evidências limitadas sugerindo que os carbamatos (p. ex., aldicarb) apresentem toxicidade aguda mais exacerbada em animais jovens do que em adultos, provavelmente devido à baixa detoxificação.

Piretroides

As piretrinas foram desenvolvidas inicialmente como inseticidas a partir de extratos das flores do crisântemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*), cujo potencial inseticida era conhecido e usado desde a antiguidade na China e na Pérsia. Esses compostos se decompõem rapidamente à luz solar, e, por isso, foram desenvolvidos análogos sintéticos que fossem menos suscetíveis a esse efeito. Em função da alta atividade inseticida, da toxicidade relativamente baixa em mamíferos, de nenhuma persistência no ambiente e da baixa tendência a induzir resistência em insetos, esses compostos atualmente representam mais de 25% do mercado global de inseticidas. Os piretroides são amplamente usados como inseticidas domésticos e agrícolas, como medicamento no tratamento de escabiose e piolhos, e, nos países tropicais, são embebidos em mosquiteiros visando evitar picadas de mosquitos. Os piretroides alteram a função nervosa normal dos insetos porque modificam a sensibilidade dos canais de sódio, os quais medeiam, de forma passageira, o aumento da permeabilidade do sódio na membrana nervosa subjacente à ação potencial nervosa.

Uma vez absorvidos, os piretroides são rapidamente biotransformados por duas vias principais: pela hidrólise da ligação éster, catalisada por carboxiesterases plasmáticas e hepáticas, e pela oxidação da ligação alcoólica pelas enzimas do citocromo P450. A essas reações iniciais, seguem-se outras reações de hidrólise e oxidação, além de conjugações com sulfato ou ácido glucurônico.

Sinais e sintomas de intoxicação e mecanismo de ação Os efeitos tóxicos dos piretroides foram divididos em dois tipos, que se baseiam nos efeitos observados em estudos em ratos (Tab. 22.5). Esses compostos interrompem os canais de sódio voltagem-dependentes em mamíferos e insetos; ligam-se à subunidade α do canal de sódio e diminuem a ativação (abertura), bem como a taxa de inativação (fechamento), do canal de sódio, levando a um estado estável de hiperexcitação. Acredita-se que a alta suscetibilidade dos insetos aos piretroides, comparando-a à dos mamíferos, seja resultante da combinação da maior suscetibilidade dos canais de sódio no inseto, da menor temperatura corpórea (piretroides apresentam um coeficiente de ação negativo em função da temperatura) e de menor biotransformação. Os

TABELA 22.5 Classificação dos inseticidas piretroides com base em seus efeitos tóxicos em ratos

Síndrome	Sinais e sintomas	Exemplos
Tipo I (síndrome T)	Comportamento agressivo Aumento da suscetibilidade a estímulos externos Tremores por todo o organismo Prostração	Aletrina Bioaletrina Resmetrina Fenotrina
Tipo II (síndrome CS)	Comportamento animal (dar patadas e escavar) Salivação excessiva Tremores fortes Coreoatetose Convulsões clônicas	Deltametrina Fenvalerato Cipermetrina Cialotrina

piretroides tipo II ligam-se e inibem os receptores GABA e bloqueiam canais de cloro em concentrações maiores do que aquelas necessárias para afetar os canais de sódio (10^{-7} M *versus* 10^{-10} M). Acredita-se que esse efeito contribua para o aparecimento das convulsões observadas nos casos graves de intoxicação por piretroides tipo II.

Animais jovens são mais suscetíveis à toxicidade aguda dos piretroides deltametrina e cipermetrina, provavelmente em função de sua menor capacidade de detoxificação.

Em casos de exposição ocupacional, a parestesia é o efeito adverso mais relevante, resultante do contato dérmico com os piretroides. Os sintomas incluem formigamento contínuo ou ardor, em casos mais graves. Esses efeitos são revertidos em 24 horas após a exposição, sendo de grande utilidade a aplicação tópica de vitamina E. Provavelmente, a parestesia ocorre em função da atividade repetitiva da indução anormal causada pelos piretroides nas terminações nervosas da pele. Estudos de toxicidade crônica indicam que, em altas doses, os piretroides podem causar um leve aumento do fígado, frequentemente acompanhado de modificações histopatológicas. Observou-se, no caso de exposição a deltametrina, um aumento da taxa de incidência de linfomas em roedores, porém esse efeito não estava relacionado com a dose.

Compostos organoclorados

Os inseticidas organoclorados incluem os derivados etanoclorados, tais como o DDT e seus análogos; os ciclodienos, tais como clordano, aldrin, dieldrin, heptacloro, endrin e toxafeno; os hexaclorociclohexanos, tais como o lindano; e as estruturas fechadas, como o mirex e a clordecona. Esses inseticidas apresentam toxicidade aguda moderada (menor do que a dos OFs), porém a exposição crônica pode estar associada a efeitos adversos, sobretudo no fígado, e a interferência endócrina, no sistema reprodutor.

DDT e seus análogos O DDT é eficaz contra uma enorme variedade de pragas observadas na agricultura, bem como contra insetos transmissores de moléstias infecciosas disseminadas mundialmente, tais como tifo, malária e febre amarela. O DDT apresenta toxicidade oral aguda moderada, e sua absorção dérmica é bastante limitada. Em seres humanos, as doses de 10 a 20 mg/kg produzem efeitos tóxicos, porém doses tão altas quanto 285 mg/kg já foram ingeridas acidentalmente sem que os indivíduos fossem a óbito. A toxicidade dérmica também é baixa em casos de exposição humana, como foi observado na ausência de efeitos adversos significativos quando milhares de indivíduos foram pulverizados com o composto. O DDT, ao ser absorvido, distribui-se por todos os tecidos, sendo que as maiores concentrações são encontradas no tecido adiposo.

A exposição aguda a altas doses de DDT leva a agitação motora, aumento da frequência de movimentos espontâneos, suscetibilidade anormal a sensação de medo e hipersuscetibilidade a estímulos externos (luz, toque e sons). Esses sinais são seguidos de tremores leves, posteriormente mais bruscos, e convulsões tônico-clônicas. Em seres humanos, os primeiros sintomas de intoxicação por DDT são hiperestesia da boca e parte inferior da face, seguida de parestesia nessas mesmas áreas e na língua. Seguem-se tontura, tremores das extremidades, confusão e vômito; as convulsões ocorrem apenas nos casos de intoxicação grave. Tanto nos insetos como nos seres humanos, o DDT interfere nos canais de sódio na membrana axonal, apresentando um mecanismo semelhante ao dos piretroides tipo I.

Na exposição crônica ao DDT, o fígado é um órgão-alvo importante. Tanto esse composto como seu produto de biotransformação, o DDE, aumentam o peso do fígado e causam hipertrofia e necrose das células hepáticas, uma vez que são potentes indutores das enzimas do citocromo P450, particularmente das CYP2B e CYP3A. Tanto o DDE quando o DDD, outro produto de biotransformação, são carcinogênicos para roedores, levando ao aumento de tumores hepáticos.

Hexaclorociclohexanos e ciclodienos Essas famílias dos inseticidas organoclorados englobam um grande número de compostos que apresentam o mesmo mecanismo de ação neurotóxica. O lindano é o isômero γ do hexaclorobenzeno (HCB; 1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano). Os compostos ciclodienos incluem clordano, dieldrin, aldrin (que é rapidamente biotransformado a dieldrin), heptacloro e endrin. O toxafeno é uma mistura complexa de mais de 200 bornanos e canfenos clorados.

O lindano e os ciclodienos apresentam toxicidade oral aguda moderada (Fig. 22.2). Entretanto, contrastando com o DDT, esses compostos são rapidamente absorvidos pela pele. Seu órgão-alvo de toxicidade é o sistema nervoso central. Ao contrário do DDT, não se observam tremores, porém as convulsões são um efeito proeminente nesse tipo de intoxicação. Esses compostos se ligam a sítios ligantes de picrotoxina nos canais de sódio, bloqueiam sua abertura e antagonizam a ação inibitória do GABA.

Outros inseticidas novos e antigos

Rotenoides As raízes da *Derris elliptica* e da *Lonchocarpus utilis* e *Lonchocarpus urucu*, encontradas na América do Sul, contêm, pelo menos, seis ésteres rotenoides; a mais abundante é a rotenona, usada como inseticida/acaricida na agricultura, particularmente na produção biológica de vegetais. A toxicidade da rotenona para espécies-alvo e não alvo está relacionada a sua capacidade de inibir, em concentrações nanomolares, a cadeia respiratória mitocondrial, bloqueando o transporte de elétrons da enzima NADH-ubiquinona redutase, enzima esta conhecida como complexo I, que é um complexo enzimático conservador de energia. Os sintomas de intoxicação incluem aumento inicial da frequência respiratória e cardíaca, espasmos tônico-clônicos e depressão muscular, seguida de depressão respiratória. A rotenona pode desempenhar um papel na etiologia da doença de Parkinson.

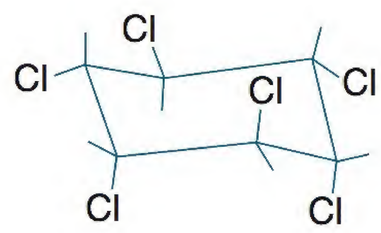
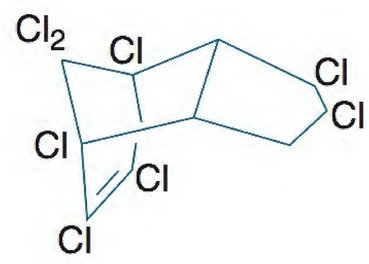
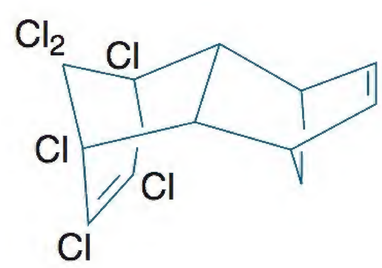
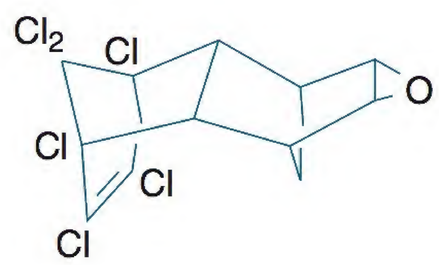
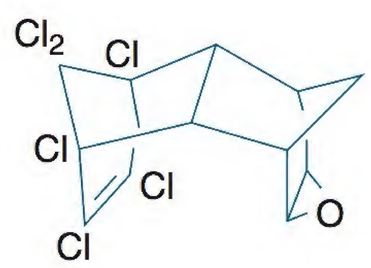
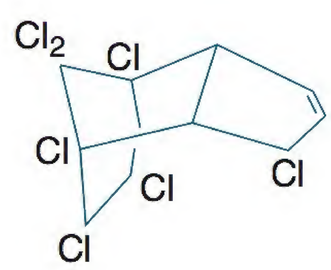
		DL_{50} aproximada (mg/kg)
Lindano (γ- HCB)		200
Clordano		500
Aldrin		50
Dieldrin		50
Endrin		20
Heptacloro		150

FIGURA 22.2 Estruturas e toxicidade aguda (DL_{50} oral em ratos) de inseticidas organoclorados selecionados de diversas classes químicas.

Nicotina A nicotina é um alcaloide extraído das folhas da planta do tabaco (*Nicotiana tabacum* e *Nicotiana rustica*), sendo usada na forma de base livre ou como sal de sulfato. É considerada um inseticida menos relevante, e os sinais e sintomas de intoxicação incluem náusea, vômito, fraqueza muscular, efeitos respiratórios, cefaleia, letargia e taquicardia. A maior parte dos casos de intoxicação pela nicotina está relacionada a exposição de produtos do tabaco, como chicletes e adesivos. Os trabalhadores envolvidos com cultivo, colheita ou manuseio do tabaco podem apresentar a doença da folha verde do tabaco, causada pela absorção dérmica da nicotina.

Avermectinas As avermectinas são lactonas macrocíclicas isoladas da fermentação do caldo de *Streptomyces avermitilis*. Esse fungo sintetiza oito avermectinas que apresentam atividade antiparasitária. Esses derivados semissintéticos da avermectina B_{1a}, benzoato de emamectina e ivermectina, são usados, respectivamente, como inseticidas e no controle de parasitas na medicina humana e veterinária. A abamectina é utilizada sobretudo no controle de ácaros, enquanto o benzoato de emamectina é eficaz no controle de espécies de lepidópteros em diversas lavouras e de brocas cinza-esmeralda em árvores. A ivermectina é usada como medicamento anti-helmíntico e antiparasitário na medicina veterinária, e, em seres humanos, provou ser eficiente no tratamento de vermes filamentares intestinais, oncocercose e filariose linfática. Os sinais e sintomas de intoxicação são hiperexcitação, tremores e incoordenação, seguidos de ataxia e sedação do tipo comatosa.

REPELENTES DE INSETOS

O DEET (*N*, *N*-dietil-*m*-toluamida, ou *N*, *N*-dietil-3-metil-benzamida) é muito eficaz como repelente de insetos, carrapatos, moscas e pulgas, sendo que a duração do efeito protetor aumenta com o aumento da concentração. Estudos de toxicidade subcrônica sobre o DEET, em diversas espécies animais, não constataram efeitos tóxicos significativos, e também não foram observados efeitos deletérios em estudos de mutagenicidade, toxicidade reprodutiva e carcinogenicidade, bem como em estudos de toxicidade aguda e neurotoxicidade crônica.

HERBICIDAS

Os herbicidas são agentes químicos capazes de matar ou causar danos graves em plantas. A Tabela 22.6 apresenta exemplos de classes de herbicidas e alguns dos diversos mecanismos pelos quais esses compostos podem produzir algum efeito biológico nas plantas. Outro método que permite a classificação desses compostos está associado à forma como são aplicados. Assim, os herbicidas *pré-plantio* são aplicados antes da semeadura; os *pré-emergentes* são aplicados no solo antes do aparecimento de ervas daninhas; e os *pós-emergentes* são aplicados no solo ou nas folhagens após a germinação das culturas ou das ervas daninhas. Os herbicidas também podem ser classificados de acordo com a forma como são aplicados nas plantas. Assim, os herbicidas *de contato* são aqueles que afetam a planta tratada, enquanto os de *translocação* são aplicados no solo ou nas partes aéreas das plantas, são absorvidos e atingem tecidos internos da planta. Os herbicidas não seletivos matam toda a vegetação, enquanto os seletivos são usados para matar as ervas daninhas sem causar dano à lavoura.

Diversos herbicidas podem causar irritação e dermatite de contato, particularmente em indivíduos predispostos a reações alérgicas. Outros compostos têm gerado muita discussão por suspeita de neurotoxicidade ou carcinogenicidade. A seguir, são apresentadas as diversas classes de herbicidas associadas a efeitos adversos em humanos.

TABELA 22.6 Alguns mecanismos de ação dos herbicidas

Mecanismo	Exemplo de classes químicas
Inibição de fotossíntese	Triazinas (atrazina), ureias substituídas (diuron), uracilas (bromacil)
Inibição respiratória	Dinitrofenóis
Auxina: regulador de crescimento	Ácidos fenoxiacéticos (2,4-D), ácidos benzoicos (dicamba), ácidos piridínicos (picloram)
Inibidores de síntese de proteína	Dinitroanilinas
Inibidores de síntese de lipídeos	Arilfenoxipropionatos (diclofop)
Inibição de enzimas específicas • Glutamina sintetase • Enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintetase • Acetolactato sintase (ALS)	 Glifosinato Glifosato Sulfonilureias
Interferentes da membrana celular	Derivados bipiridílicos (paraquat)

Compostos clorofenoxi

Compostos clorofenoxi são agentes químicos análogos à auxina, um hormônio de crescimento de plantas, que produzem crescimento incontrolável e letal em plantas-alvo. O hormônio auxina é fundamental para o crescimento de diversas plantas de folhas largas, porém não se encontra presente em gramíneas; assim, esses compostos podem impedir o crescimento de ervas daninhas (p. ex., dentes-de-leão) sem afetar as gramíneas. O ácido 2,4-diclorofenoxi acético (2,4-D) é o composto mais conhecido dessa classe.

A ingestão de 2,4-D causa intoxicação aguda em seres humanos, cujos sintomas são vômito, sensação de queimação da boca, dores abdominais, hipotensão, miotonia e sintomas associados ao sistema nervoso central, inclusive coma. A absorção dérmica é a via mais frequente de exposição não intencional do 2,4-D em humanos.

Existem vários estudos de caso que sugerem a associação entre a exposição ao 2,4-D e efeitos neurológicos, tais como neuropatias periféricas, desmielinização e degeneração ganglionar no sistema nervoso central, velocidade reduzida da condução nervosa, miotonia e alterações comportamentais. Os herbicidas clorofenoxi vêm sendo muito considerados em relação a sua exposição em associação com linfoma não Hodgkins ou sarcoma dos tecidos moles, que foi encontrada em alguns estudos epidemiológicos.

Compostos bipiridílicos

O paraquat é um herbicida de contato, não seletivo, de rápida ação, usado no controle de plantas de folhas largas e de gramíneas na lavoura e em pomares, além do controle geral de ervas daninhas. O composto apresenta uma das mais altas toxicidades agudas entre os herbicidas. Independentemente da via de exposição, o paraquat se acumula nos pulmões e rins. É pouco biotransformado, sendo excretado inalterado pela urina. Apresenta pouca ou nenhuma atividade genotóxica, não é carcinogênico para roedores, não induz efeitos teratogênicos e apresenta fetotoxicidade apenas nas doses em que se observa toxicidade materna. O problema toxicológico mais relevante são os efeitos sistêmicos agudos, primariamente nos pulmões e, em segundo lugar, nos rins.

Uma vez absorvido, o paraquat entra nas células e sofre redução, seguida de reoxidação, processo conhecido como ciclo redox. Esse ciclo intracelular do paraquat também resulta na oxidação do NADPH, levando a sua depleção celular, exacerbada pela detoxificação da enzima hidrogênio peroxidase formada pelo sistema glutationa peroxidase/redutase para regenerar GSH (Fig. 22.3).

O dano às células epiteliais alveolares aparece em 24 horas após a exposição aguda a doses letais do paraquat; progride nos 2 ou 4 dias subsequentes com perda do epitélio alveolar e aparecimento de edema pulmonar, extensa infiltração de células inflamatórias no interstício alveolar e, por fim, morte, causada por

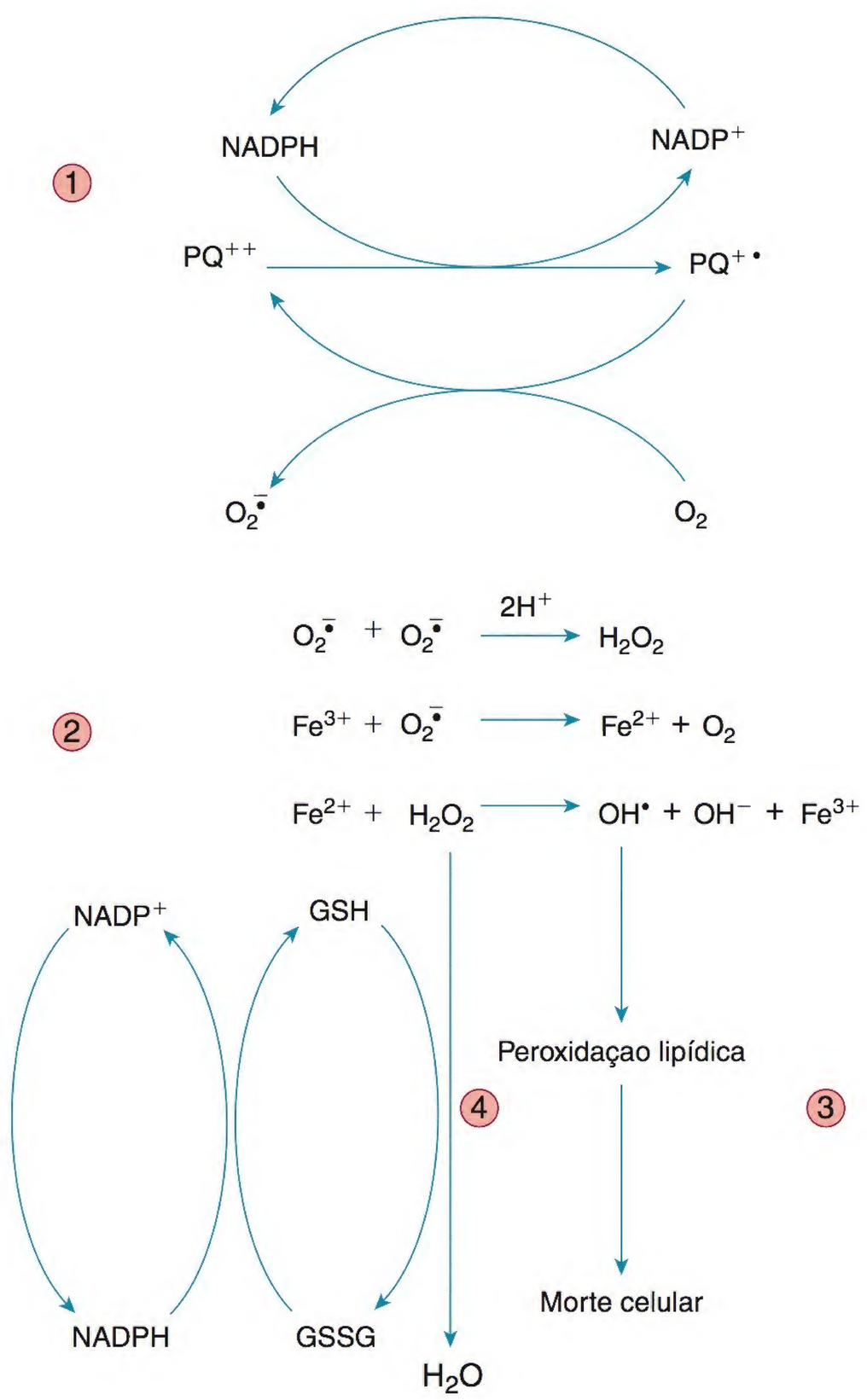


FIGURA 22.3 Mecanismo de ação do paraquat. (1) Ciclo redox do paraquat utilizando NADPH; (2) formação de radicais hidroxilas levando a peroxidação lipídica (3); (4) detoxificação do H_2O_2 via glutationa redutase/peroxidase utilizando NADPH. (Modificada de Smith LL: Mechanism of paraquat toxicity in the lung and its relevance to treatment. *Hum Toxicol* 6:31-36, 1987, com permissão de Palgrave Macmillan.)

grave anoxia. Os sobreviventes dessa primeira fase apresentam extensa proliferação dos fibroblastos pulmonares. A segunda fase é caracterizada pelas tentativas do epitélio alveolar de regenerar e restaurar sua estrutura normal, e, assim, apresenta fibrose bastante disseminada. Os indivíduos que sobrevivem à primeira fase podem morrer em função da perda das funções pulmonares algumas semanas após a exposição.

O herbicida diquat apresenta um perfil toxicológico bem diferente do paraquat. A toxicidade aguda do diquat é menor, e, em contraste, com o paraquat, não se acumula nos pulmões, nem se observa toxicidade pulmonar em exposições agudas ou crônicas. Na exposição crônica, a toxicidade é observada no sistema digestório, nos rins e, particularmente, nos olhos. Assim como o paraquat, o diquat pode ser reduzido à forma de radical livre e ser reoxidado na presença de oxigênio, produzindo o ânion superóxido. Esse processo de ciclo redox pode acontecer nos olhos, e acredita-se que esse seja o mecanismo pelo qual ocorre a formação de catarata. Os sintomas clínicos observados em humanos incluem náusea, vômito, diarreia, ulceração bucal e esofágica, diminuição das funções renais e efeitos neurológicos, porém não se observa fibrose pulmonar.

Cloroacetanilidas

Os compostos representantes dessa classe de herbicidas são o alaclor, o acetoclor e o metolaclor, que são usados no controle de gramíneas e ervas daninhas de folhas largas em diversas lavouras (milho, soja e amendoim). O alaclor, o acetoclor e o butaclor são considerados prováveis carcinógenos humanos (grupo B2). A descoberta do alaclor em águas de poço levou ao cancelamento do registro desse produto em alguns países e a sua restrição de uso em outros. Acredita-se que em ambos os casos a formação do câncer seja um fenômeno dose-dependente.

Triazinas

A família dos herbicidas triazínicos engloba diversos compostos (atrazina, simazina e propazina) amplamente utilizados no controle pré-emergente de ervas daninhas de folhas largas. A triazina apresenta baixa toxicidade aguda oral e dérmica, e estudos de toxicidade crônica indicam como efeito mais relevante a diminuição de peso corpóreo. Não existem evidências de que os triazínicos sejam teratogênicos, genotóxicos ou que produzam danos ao sistema reprodutivo e ao desenvolvimento embrionário e fetal. No entanto, um estudo recente sugere um possível efeito clastogênico. Embora a exposição alimentar por resíduos de atrazina seja muito baixa, é comum a presença desse composto em água subterrânea e na água potável. Dessa forma, devem-se avaliar cuidadosamente os efeitos de interferência endócrina desses herbicidas, uma vez que apresentam efeitos hormonais.

Aminoácidos fosfonometil

Existem dois compostos nessa classe de herbicidas: o glifosato (*N*-fosfonometil glicina) e o glifosinato (*N*-fosfonometil homoalanina). Ambos são herbicidas não seletivos, de amplo espectro de ação, usados no controle pós-emergente de plantas perenes e anuais. Embora os dois compostos apresentem a ligação P=O, são organofosfonatos e não inibem a enzima acetilcolinesterase.

Glifosato O glifosato exerce sua ação herbicida inibindo a enzima 5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase, responsável pela síntese de um intermediário da biossíntese de diversos aminoácidos. Embora essa via metabólica seja importante para as plantas, ela não existe em mamíferos. Esse composto não apresenta efeito teratogênico, nem no desenvolvimento embrionário e fetal ou reprodutivo. Estudos de genotoxicidade e carcinogenicidade apresentaram resultados negativos.

O glifosato é um dos herbicidas mais amplamente utilizados, sendo que a expansão de seu uso se deve ao desenvolvimento de culturas transgênicas que toleram a aplicação do composto. A exposição acidental ou intencional ao glifosato acaba sendo inevitável, uma vez que ele é amplamente utilizado, inclusive em lares (jardins) e mercados de plantas. O glifosato mais usado é o Roundup®, que é formulado na forma de concentrado contendo água, 41% de glifosato (como sal de isopropilamina) e 15% de polioxietilenamina. Nos casos de intoxicações leves, observam-se

basicamente sintomas gastrintestinais passageiros. A intoxicação moderada ou aguda apresenta sangramento gastrintestinal, hipotensão, disfunção pulmonar e dano renal.

Glifosinato O glifosinato é um herbicida de contato não seletivo que age inibindo a glutamina sintetase. As plantas morrem como consequência do aumento dos níveis de amônia. Mamíferos apresentam outros sistemas de biotransformação e podem suportar, até certo ponto, os efeitos da atividade da glutamina sintatase. Não existem evidências de que o composto possa apresentar efeitos genotóxicos ou carcinogênicos ou efeitos diretos na fertilidade ou na reprodução. Foram observados efeitos tóxicos no desenvolvimento em coelhos (nascimentos prematuros, abortos e fetos mortos). Os sintomas de intoxicação incluem efeitos gastrintestinais, comprometimento do sistema respiratório, distúrbios neurológicos e efeitos cardiovasculares.

FUNGICIDAS

As doenças causadas por fungos são praticamente impossíveis de serem tratadas sem o uso de agentes químicos. Os fungicidas químicos apresentam uma série de estruturas, que vão desde simples compostos inorgânicos, como o sulfato de cobre, até compostos orgânicos mais complexos. A maioria dos fungicidas é protetora de plantas ou de superfícies e é aplicada previamente a uma infestação potencial por esporos fúngicos, tanto em plantas como após a colheita. Alguns fungicidas podem ser usados terapeuticamente, visando tratar as plantas após o início da infestação; outros são utilizados como fungicidas sistêmicos e distribuídos por toda a planta.

Embora existam algumas poucas exceções, os fungicidas apresentam baixa toxicidade aguda em mamíferos. Alguns desses compostos foram associados a graves surtos de intoxicação e foram banidos.

Captan e folpet

Captan e folpet são fungicidas de largo espectro; juntos com o captafol, são denominados fungicidas alquiltióis clorados, pela presença de cadeias laterais contendo cloro, carbono e enxofre. São irritantes oculares potentes, porém causam leve irritação dérmica. Apresentam baixa absorção pela pele. O captan e o folpet, bem como o tiofosgênio, mostraram-se mutagênicos em estudos *in vitro*; no entanto, a maioria dos estudos *in vivo* apresentou resultados negativos, possivelmente por conta da rápida degradação desses compostos. Esses fungicidas induzem o desenvolvimento de tumores no duodeno de camundongos, sendo, em função desse efeito, classificados pela EPA como prováveis carcinógenos humanos. Em razão de suas semelhanças estruturais com o potente teratógeno talidomida, os fungicidas alquiltióis clorados foram exaustivamente testados em estudos de toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento em múltiplas espécies, porém não foram observados resultados positivos para o efeito teratogênico.

Ditiocarbamatos

A nomenclatura de diversos desses compostos está relacionada com os cátions metálicos com os quais estão associados; assim, existem, por exemplo, maneb (Mn), ziram e zineb (Zn), e mancozeb (Mn e Zn) (Fig. 22.4). O thiram é um exemplo de ditiocarbamato que não se liga a metais. Esses compostos têm baixa toxicidade aguda pelas vias oral, dérmica e respiratória. Entretanto, a exposição crônica está associada a efeitos adversos, que podem advir do ácido ditiocarbamato ou do metal ligante. Esses compostos são biotransformados em um metabólito comum denominado etilenotioureia (ETU), que é responsável pelos efeitos dos ditiocarbamatos na tireoide, os quais incluem hipertrofia e hiperplasia das células foliculares tireoidianas, que progridem para adenomas e carcinomas; também alteram os níveis de hormônios tireoidianos e causam hipertrofia da tireoide. Além disso, a estrutura dos fungicidas ditiocarbamatos assemelha-se à do dissulfiram, que inibe a aldeído desidrogenase e pode, após ingestão de etanol, produzir níveis elevados de acetaldeído.

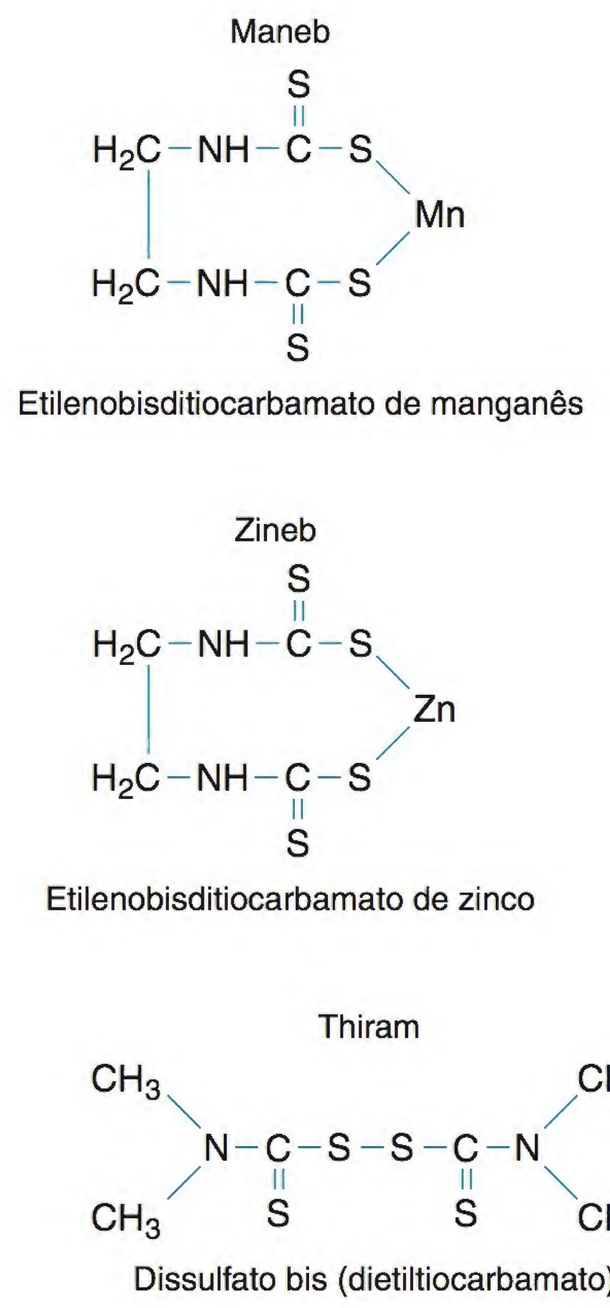


FIGURA 22.4 Estrutura química de três fungicidas ditiocarbamatos.

Fungicidas inorgânicos e organometálicos

O sulfato de cobre apresenta baixa toxicidade e mantém-se como um dos fungicidas mais amplamente utilizados. O acetato de trifenilestanho é usado como fungicida, enquanto o tributilestanho é usado como agente anti-incrustante. O trifenilestanho apresenta efeitos de moderados a altamente tóxicos em exposição aguda e pode causar toxicidade reprodutiva e interferência endócrina. Compostos organomercuriais, tais como o metilmercúrio, foram amplamente utilizados como fungicidas na prevenção de doenças em grãos e cereais.

RODENTICIDAS

Ratos e camundongos podem acarretar danos econômicos e à saúde humana. Roedores são vetores de diversas doenças, inclusive pestes, rickettsiose, espiroquetose; às vezes, podem morder pessoas; podem consumir grandes quantidades de alimentos armazenados após a colheita e contaminá-los com urina, fezes e pelos. Os rodenticidas desempenham papel importante no controle de roedores. Para serem eficazes e seguros ao mesmo tempo, esses compostos devem satisfazer a diversos critérios: (1) o praguicida deve ser muito eficaz para as espécies-alvo uma vez incorporados nas iscas em pequenas quantidades; (2) as iscas devem ser atrativas, de modo a incentivar o animal a continuar a ingeri-las; (3) a forma como o animal é induzido à morte não pode levantar suspeitas de sua causa nos sobreviventes; (4) deve ser específico para cada espécie e de considerável baixa toxicidade para outras espécies animais. Podem surgir problemas toxicológicos em casos de ingestão acidental ou em tentativas de suicídio e homicídios. Todos os anos acontecem milhares de casos de ingestão acidental de iscas de rodenticidas por crianças, mas que terminam sem sérias consequências.

Ácido fluoroacético e derivados

O fluoroacetato de sódio (composto 1080) e a fluoroacetamida são compostos brancos e inodoros. Por apresentarem alta toxicidade para mamíferos, somente indivíduos capacitados podem usá-lo. Os efeitos tóxicos mais relevantes estão relacionados ao sistema nervoso e ao cardíaco. Os sintomas iniciais associados ao sistema digestório são seguidos de efeitos cardiovasculares (taquicardia ventricular, fibrilação e hipotensão), bem como de efeitos no sistema nervoso central (agitação, convulsão e coma). O uso desse composto nos EUA é bastante restrito, particularmente devido a sua toxicidade para animais não alvo, como cães.

Anticoagulantes

Além do uso como rodenticidas, os derivados cumarínicos, incluindo a própria cumarina, são utilizados como medicamentos anticoagulantes e tornaram-se o composto de escolha na prevenção de doenças tromboembolíticas. As cumarinas antagonizam a ação da vitamina K na síntese dos fatores de coagulação (fatores II, VII, IX e X). Seu mecanismo de ação envolve a inibição da vitamina K epóxido redutase, que regenera a vitamina K reduzida necessária para o sustento da carboxilação e síntese dos fatores relevantes à coagulação. São raros os casos de intoxicação por esses rodenticidas, devido ao fato de serem dispersos em iscas seguras. No entanto, existe um número significativo de casos de tentativas de suicídio e homicídio ou de consumo acidental da varfarina.

FUMIGANTES

Esses agentes são eficazes contra insetos, ácaros, nematoides, sementes de ervas daninhas, fungos ou roedores e têm em comum a forma de gás na qual se encontram ao exercer sua ação praguicida. Podem estar na forma líquida, prontamente evaporável (p. ex., dibrometo de etileno), sólida, que pode liberar um gás tóxico ao reagir com a água (p. ex., fosfina liberada pelo fosfeto de alumínio), ou de gás (p. ex., brometo de metila). Na fumigação do solo, os compostos são injetados diretamente nele, que posteriormente é coberto por um lençol plástico, permitindo sua vedação. Em geral, os compostos usados como fumigantes são altamente reativos, não seletivos e citotóxicos. Apresentam riscos potenciais em casos de exposição por via inalatória e em menor grau por exposição dérmica ou ingestão, nos casos de compostos sólidos ou líquidos.

Brometo de metila

O brometo de metila é um praguicida de amplo espectro, usado na fumigação de solos, no tratamento de commodities e na fumigação de estruturas. A exposição aguda leva ao aparecimento de sintomas respiratórios, gastrintestinais e neurológicos; no caso deste último, inclui letargia, cefaleia, convulsões, parestesias, neuropatias periféricas e ataxia, e são considerados mais relevantes do que outros efeitos tóxicos na avaliação do risco humano. Estudos de neurotoxicidade aguda e crônica indicam efeitos comportamentais e lesões morfológicas dependentes da concentração e do tempo de exposição. O brometo de metila é um gás inodoro e incolor, porém, a cloropicrina, que apresenta um odor pungente, e é irritante ocular é frequentemente usada misturada ao brometo de metila e a outras misturas de fumegantes, visando prevenir exposições potencialmente nocivas.

1,3- Dicloropropeno

O 1,3-dicloropropeno é um fumigante de solo amplamente utilizado pela sua capacidade de controle de nematoides. É um composto irritante e pode causar vermelhidão e necrose de pele. É extensamente biotransformado, sendo que o metabólito mais expressivo encontrado na urina é o conjugado com o ácido mercaptúrico. Os dados relativos à genotoxicidade são contraditórios, e estudos de carcinogênese em roedores mostraram um aumento de tumores benignos no fígado de ratos, mas não em camundongos, após administração oral do composto.

Enxofre

O enxofre elementar é eficaz como fumigante no controle de diversas doenças vegetais, em especial doenças fúngicas, e representa o composto mais usado na proteção química de culturas dos EUA. É usado prioritariamente em uvas e tomates e pode ser utilizado na agricultura orgânica. As dermatites são os efeitos mais relevantes à saúde humana associados ao uso agrícola de enxofre. Em ruminantes, a ingestão excessiva do composto pode causar necrose cerebrocortical (polioencefalomalácia), possivelmente causada pela conversão a sulfeto de hidrogênio, por microrganismos presentes no rúmen desses animais.

REFERÊNCIAS

Marrs TT, Ballantyne B: *Pesticide Toxicology and International Regulation*. Hoboken NJ: John Wiley & Sons, 2004.

Yu SJ: *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2008.

QUESTÕES

1. Qual das alternativas seguintes NÃO contribui para a presença dos inseticidas organoclorados no ambiente?
   a. Alta solubilidade em água
   b. Baixa volatilidade
   c. Estabilidade química
   d. Baixo custo
   e. Baixa taxa de degradação

2. Todas as alternativas seguintes são características da intoxicação por DDT, EXCETO:
   a. Parestesia
   b. Hipertrofia dos hepatócitos
   c. Aumento do transporte de potássio pela membrana
   d. Lento fechamento dos canais de íons sódicos
   e. Tontura

3. Agentes anticolinesterásicos:
   a. aumentam a atividade da AChE.
   b. aumentam a concentração de acetilcolina nas fendas sinápticas.
   c. apenas atuam nas junções neuromusculares.
   d. antagonizam os receptores colinérgicos.
   e. causam diminuição da estimulação do sistema nervoso autonômico.

4. Todos os sintomas seguintes podem aparecer na intoxicação causada por inseticidas anticolinesterásicos, EXCETO:
   a. Broncodilatação
   b. Taquicardia
   c. Diarreia
   d. Aumento da pressão sanguínea
   e. Dispneia

5. Qual dos seguintes inseticidas bloqueia o transporte de elétrons na cadeia de NADH-uiquinona redutase?
   a. Nicotina
   b. Ésteres de carbamato
   c. Nitrometilenos
   d. Ésteres de piretroides
   e. Rotenoides

6. Qual é o mecanismo principal da toxicidade dos ésteres de piretroides?
   a. Bloqueio da liberação de neurotransmissores.
   b. Inibição da reabsorção de neurotransmissores.
   c. Atuam como agonistas em receptores.
   d. Causam hiperexcitação das membranas ao interferir no transporte de sódio.
   e. Interferem no transporte de Cl^- pela membrana axonal.

7. Qual dos seguintes herbicidas NÃO corresponde ao seu mecanismo de ação?
   a. Glifosinato – inibição da glutamina sintetase
   b. Paraquat – interfere na síntese de proteínas
   c. Glifosato – inibe a síntese de aminoácidos
   d. Compostos clorofenoxi – estimulantes de crescimento
   e. Diquat – produção de ânion superóxido no ciclo redox

8. O captan:
   a. é um herbicida que inibe o crescimento de raízes.
   b. é um inseticida que atua no sistema reprodutor.
   c. é um fungicida que pode causar tumores de duodeno.
   d. é um herbicida que estimula o crescimento.
   e. é um fungicida sabidamente teratogênico.

9. Qual é o mecanismo de ação da nicotina?
   a. A nicotina antagoniza a acetilcolina na junção neuromuscular.
   b. A nicotina diminui a taxa de repolarização da membrana axonal.
   c. A nicotina interfere na permeabilidade do sódio.
   d. A nicotina atua como agonista da acetilcolina nas sinapses.
   e. A nicotina inibe a liberação de neurotansmissores.

10. Qual dos seguintes sintomas é o mais característico na intoxicação por varfarínicos?
    a. Diarreia
    b. Cianose
    c. Diminuição do metabolismo da glicose
    d. Hematomas
    e. Convulsões

CAPÍTULO

23

Efeitos Tóxicos dos Metais

Jie Liu, Robert A. Goyer e Michael P. Waalkes

INTRODUÇÃO
- **O que é um metal?**
- **Metais como agentes tóxicos**
- **Movimento dos metais no meio ambiente**
- **Mecanismos químicos da toxicologia dos metais**
- **Fatores de impacto na toxicidade dos metais**
- **Biomarcadores de exposição a metais**
- **Proteínas de ligação a metais e transportadores de metais**
- **Farmacologia dos metais**

PRINCIPAIS METAIS TÓXICOS
- **Arsênio**
  - Toxicidade
  - Carcinogenicidade
  - Tratamento
- **Cádmio**
  - Exposição
  - Toxicidade
- **Chumbo**
  - Exposição
  - Toxicidade
- **Mercúrio**
  - Ciclo global e ecotoxicologia
  - Exposição
  - Toxicidade
- **Níquel**
  - Toxicidade
  - Carcinogenicidade

METAIS ESSENCIAIS COM POTENCIAL PARA TOXICIDADE
- **Cobre**
  - Toxicidade
  - Doenças hereditárias do metabolismo do cobre
- **Ferro**
  - Toxicidade
- **Zinco**
  - Essencialidade e deficiência
  - Toxicidade

METAIS RELACIONADOS À TERAPIA MÉDICA
- **Alumínio**
  - Toxicidade
- **Lítio**
  - Toxicocinética
  - Toxicidade
- **Platina**
  - Toxicidade

PONTOS-CHAVE

- Pessoas em ambas as extremidades do ciclo de vida, crianças ou idosos, são mais suscetíveis à toxicidade pela exposição a uma concentração específica de metal do que a maioria dos adultos.
- Metais que provocam reações imunes incluem o mercúrio, o ouro, a platina, o berílio, o cromo e o níquel.
- *Complexação* é a formação de um complexo iônico de metal no qual o íon desse metal está associado a um doador de elétrons com ou sem carga, chamado de *ligante*.
- A *quelação* ocorre quando ligantes bidentados formam estruturas anelares que incluem o íon metálico e os dois átomos ligados ao metal.
- As interações metal-proteínas incluem a ligação a várias enzimas, as metalotioneínas, ligações não específicas a proteínas como albumina sérica ou hemoglobina, e proteínas carreadoras de metais específicas envolvidas no transporte de membrana de metais.

INTRODUÇÃO

O que é um metal?

Os metais são, em geral, definidos pelas propriedades físicas do elemento no estado sólido. Propriedades gerais dos metais incluem alta refletividade (brilho), elevada condutividade elétrica, alta condutividade térmica e maleabilidade e força mecânica. Uma característica toxicológica importante dos metais é que eles podem reagir em sistemas biológicos perdendo um ou mais elétrons para formar cátions.

Há relatos de muitos metais produzirem toxicidade significante em humanos. Estes incluem os principais metais tóxicos (p. ex., chumbo e cádmio), metais essenciais (p. ex., zinco e cobre), metais medicinais (p. ex., platina e bismuto), metais pouco tóxicos incluindo os metais de tecnologia emergente (p. ex., índio e urânio), metaloides tóxicos (p. ex., arsênio e antimônio) e certos agentes tóxicos elementais não metálicos (p. ex., selênio e flúor). Uma visão geral da toxicologia dos metais é apresentada na Figura 23.1.

Metais como agentes tóxicos

Independentemente da segurança com que os metais são usados em processos industriais ou produtos de consumo, algum nível de exposição humana é inevitável. Além disso, todos os organismos vivos são forçados a lidar com esses elementos potencialmente tóxicos, mas onipresentes. Os metais diferem de outras substâncias tóxicas, pois, como elementos, não são criados nem destruídos por meio da participação humana. O uso humano dos metais influencia seus níveis ambientais no ar, na água, no solo e nos alimentos. Sua utilização pelo homem pode também alterar a forma química ou a especiação de um elemento e, portanto, impactar no potencial tóxico. Como espécies elementais, os metais não são biodegradáveis. Essa indestrutibilidade combinada com a bioacumulação contribui para a grande preocupação com relação aos metais como agentes tóxicos.

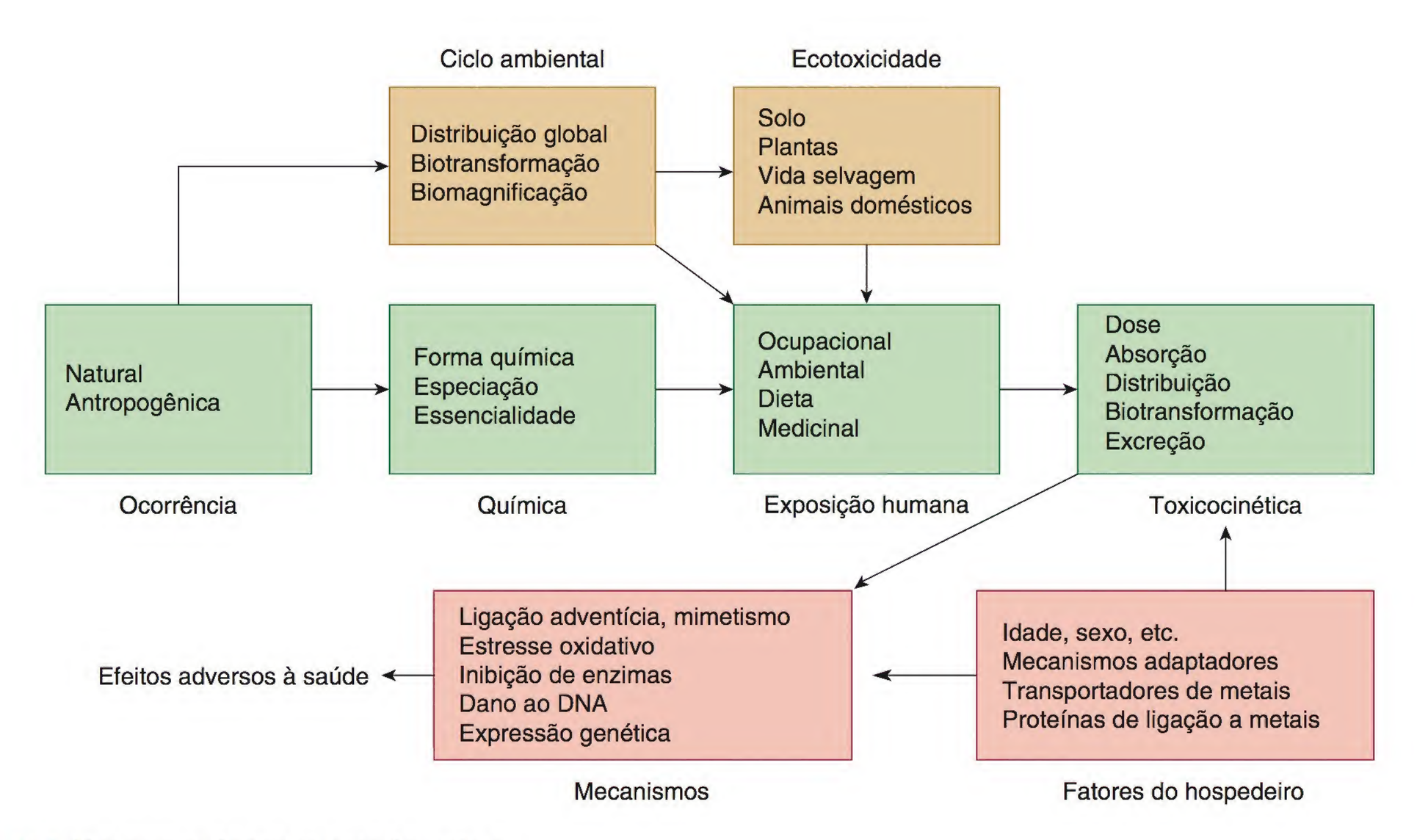


FIGURA 23.1 Visão geral da toxicologia de metais.

Movimento dos metais no meio ambiente

Os metais são redistribuídos naturalmente no ambiente por meio dos ciclos biológicos e geológicos. A água da chuva dissolve as rochas e os minérios e transporta materiais, incluindo os metais, para os rios e águas subterrâneas (p. ex., arsênio), depositando e retirando materiais de solos adjacentes e, por fim, transportando essas substâncias para o oceano para serem precipitadas como sedimento ou retomadas na formação de água da chuva para serem redepositadas em outro local. Ciclos biológicos movendo metais incluem a biomagnificação por plantas e animais resultando na incorporação em ciclos alimentares. A atividade industrial aumenta muito a distribuição dos metais no ambiente global ao depositá-los no solo, na água e no ar. Relatos de contaminação por metais são comuns em plantas, organismos aquáticos, invertebrados, peixes, mamíferos marinhos, pássaros e animais domésticos. Nem toda toxicidade humana ocorre pela deposição de metais na biosfera por meio da atividade humana. Por exemplo, a intoxicação crônica por altas concentrações de arsênio inorgânico de ocorrência natural em água potável é um grande problema de saúde em muitas partes do mundo. A intoxicação endêmica pelo excesso de flúor, selênio ou tálio também pode ocorrer por meio de concentrações ambientais naturalmente altas.

Mecanismos químicos da toxicologia dos metais

De modo químico, os metais em sua forma iônica podem ser muito reativos e podem interagir com sistemas biológicos em uma grande variedade de formas. Nesse sentido, uma célula apresenta inúmeros ligantes para ligação ao metal em potencial.

A inibição de enzimas biologicamente críticas é um mecanismo molecular importante da toxicologia dos metais.

Os metais podem mostrar formas mais específicas de ataque químico por meio do mimetismo: agindo como mimetizadores de metais essenciais, eles se ligam a locais fisiológicos que normalmente são reservados para um elemento essencial. O mimetismo e a substituição do zinco, por exemplo, é um mecanismo de toxicidade para o cádmio, o cobre e o níquel.

Outra reação química chave na toxicologia dos metais é o dano oxidativo mediado por esses elementos. Muitos metais podem agir diretamente como centros catalíticos para reações de oxirredução com o oxigênio molecular ou outros oxidantes endógenos, produzindo modificações oxidativas de biomoléculas, como proteínas ou DNA. Essa pode ser a principal etapa na carcinogenicidade de certos metais. Além dos radicais à base de oxigênio, radicais à base de carbono e de enxofre podem ocorrer.

Os metais em sua forma iônica podem ser muito reativos e formar aductos de DNA e proteínas em sistemas biológicos. Também podem induzir uma série de expressões gênicas aberrantes, que, por sua vez, produzem efeitos adversos.

Fatores de impacto na toxicidade dos metais

Os fatores relacionados à exposição incluem a dose, a via, a duração e a frequência de exposição. Os fatores com base no hospedeiro que podem ter impacto na toxicidade do metal incluem a idade na exposição, o sexo e a capacidade para biotransformação. Por exemplo, é bem claro que sujeitos mais jovens são geralmente mais sensíveis à intoxicação por metais, como no caso do desenvolvimento da neurotoxicidade na exposição ao chumbo em crianças. Uma das principais rotas de exposição a vários metais tóxicos em crianças é a alimentação, e estas consomem mais calorias por quilo de peso corporal do que os adultos. Além disso, as crianças apresentam maior absorção gastrintestinal de metais, sobretudo de chumbo. Também se acredita que idosos sejam, em geral, mais suscetíveis à toxicidade de metais do que adultos jovens. Fatores relacionados ao estilo de vida, como tabagismo ou dieta (p. ex., ingestão de álcool), podem ter impactos diretos ou indiretos no nível de intoxicação por metais.

Mecanismos adaptativos podem ser críticos aos efeitos tóxicos dos metais, e os organismos têm uma variedade de maneiras pelas quais podem se adaptar a outros efeitos tóxicos causados pelos metais. A adaptação pode ocorrer durante a entrada, a excreção ou o armazenamento, a longo prazo, em uma forma toxicologicamente inerte. A exposição a metais pode induzir uma série de respostas moleculares/genéticas que podem, por sua vez, reduzir a toxicidade, como em respostas relacionadas ao estresse oxidativo induzido por metais.

Biomarcadores de exposição a metais

Os biomarcadores de exposição, a toxicidade e a suscetibilidade são importantes na avaliação do grau de preocupação com a intoxicação por metais. Biomarcadores de exposição, tais como as concentrações do metal no sangue, na urina ou no cabelo têm sido utilizados há muito tempo. As técnicas da toxicologia molecular têm expandido as possibilidades para os biomarcadores. No caso do cromo, complexos de proteína-DNA podem servir como biomarcadores tanto da exposição quanto do potencial carcinogênico. O cabelo também pode ser útil na avaliação de variações na exposição a metais durante o período de seu crescimento.

Proteínas de ligação a metais e transportadores de metais

A ligação proteica de metais é um aspecto crítico do metabolismo de metais essenciais e tóxicos. Muitos tipos diferentes de proteínas têm importantes funções na disposição dos metais no organismo. Ligações não específicas a proteínas, como soroalbumina ou hemoglobina, agem no transporte de metais e na distribuição tecidual. Proteínas com propriedades de ligação a metais desempenham papéis especiais no transporte de determinados metais essenciais, e metais tóxicos podem interagir com essas proteínas por meio do mimetismo.

As *metalotioneínas* são os melhores exemplos de proteínas de ligação a metais. Esses ligantes *tióis* fornecem a base para a ligação de alta afinidade de vários metais essenciais e tóxicos, incluindo o zinco, o cádmio, o cobre e o mercúrio.

A *transferrina* é uma glicoproteína que liga a maior parte do ferro férrico no plasma e auxilia o transporte do elemento através das membranas celulares. Essa proteína também transporta alumínio e manganês. A *ferritina* é, sobretudo, uma proteína de armazenamento para o ferro. Tem sido sugerido que a ferrina pode servir como uma proteína detoxificante de metais em geral devido a sua capacidade de ligação a uma variedade de metais tóxicos, como o cádmio, o zinco, o berílio e o alumínio.

A *ceruloplasmina* é uma glicoproteína oxidase contendo cobre, presente no plasma e que converte o ferro ferroso em férrico, que, então, se liga à transferrina. Essa proteína também estimula a captação do ferro por um mecanismo independente de transferrina.

Farmacologia dos metais

Muitos produtos químicos metálicos são ferramentas farmacológicas valiosas no tratamento de doenças humanas, como, por exemplo, o uso altamente eficiente de compostos de platina na quimioterapia do câncer. Além disso, complexos de gálio e titânio são compostos metálicos promissores na quimioterapia da doença. Outros metais medicinais usados atualmente incluem o alumínio (antiácidos e analgésicos tamponados), o bismuto (úlcera péptica e gastrite associada a *Helicobacter pylori*), o lítio (mania e transtornos bipolares) e o ouro (artrite).

O tratamento da intoxicação pelo metal é utilizado algumas vezes para prevenir ou até para tentar reverter sua toxicidade. A estratégia típica é administrar quelantes de metal que irão complexá-lo e aumentar sua excreção. A terapia de quelação do metal deve ser considerada uma alternativa secundária à redução e à prevenção de exposição a metais tóxicos. Tal terapia pode ser utilizada para vários metais diferentes, como o chumbo, o mercúrio, o ferro e o arsênio.

PRINCIPAIS METAIS TÓXICOS

Arsênio

Os compostos arsenicais trivalentes inorgânicos mais comuns são o trióxido de arsênio e o arsenito de sódio, enquanto os compostos inorgânicos pentavalentes são o arsenato de sódio, o pentóxido de arsênio e o ácido arsênico. Os compostos orgânicos do arsênio importantes incluem o ácido arsenílico, arseno-açúcares e várias formas metiladas produzidas como uma consequência da biotransformação do arsênio inorgânico em vários organismos, incluindo o organismo humano. A arsina (AsH_3) é um importante composto arsenical gasoso.

A exposição ocupacional ao arsênio ocorre na fabricação de praguicidas, herbicidas e outros produtos agrícolas. A elevada exposição a fumos e poeiras de elemento acontece em indústrias de fundição. A exposição ambiental ao elemento acontece principalmente pela ingestão de água potável contaminada com o metal, frequentemente proveniente de fontes naturais. A exposição ambiental ao arsênio também decorre da queima de carvão contendo níveis naturalmente altos do metal. Alimentos, em especial frutos do mar, podem contribuir de maneira significativa para a ingestão diária de arsênio.

Toxicidade

Intoxicação aguda A ingestão de altas doses (70 a 180 mg) de arsênio inorgânico pode ser fatal. Os sintomas de intoxicação aguda incluem febre, anorexia, hepatomegalia, melanose, arritmia cardíaca e, em casos fatais, falência cardíaca. A ingestão de arsênio pode danificar as membranas mucosas do sistema digestório, causando irritação, formação de vesículas e até mesmo descamação. A perda sensorial no sistema nervoso periférico é o efeito neurológico mais comum, aparecendo 1 a 2 semanas após a exposição a altas doses e consistindo de degeneração walleriana dos axônios. Anemia e leucopenia, especialmente granulocitopenia, ocorrem alguns dias após a exposição a altas doses de arsênio e são reversíveis.

Toxicidade crônica A pele é um dos principais órgãos-alvo na exposição crônica ao arsênio inorgânico. O câncer de pele é comum com a prolongada exposição a altos níveis do elemento. O comprometimento do fígado, característico da exposição a longo prazo ou crônica ao arsênio, manifesta-se inicialmente por icterícia, dor abdominal e hepatomegalia e pode progredir para cirrose e ascite, até mesmo carcinoma hepatocelular.

A exposição repetida a baixos níveis de arsênio inorgânico pode produzir neuropatia periférica. Essa neuropatia geralmente se inicia com mudanças sensoriais, tais como dormência das mãos e dos pés, e mais tarde pode se desenvolver uma dolorosa sensação de "alfinetes e agulhas". Tanto os nervos sensoriais quanto os motores podem ser afetados, e pode ocorrer axonopatia distal com desmielinização.

Mecanismos de toxicidade Os compostos trivalentes do arsênio são as principais formas tóxicas, e o arsenato pentavalente é um desacoplador da fosforilação oxidativa mitocondrial. Foi demonstrado que o arsênio e seus metabólitos produzem oxidantes e danos oxidativos ao DNA, alteração no estado de metilação do DNA e instabilidade genômica, comprometimento do reparo do dano do DNA e aumento da proliferação celular.

Carcinogenicidade O arsênio é um carcinogênico humano conhecido, associado com tumores de pele, pulmões e bexiga e, possivelmente, de rins, fígado e próstata. O câncer de pele induzido pelo arsênio inclui carcinomas basocelulares e carcinomas de células escamosas (espinocelular ou planocelular), ambos originados em áreas de hiperqueratose induzida pelo arsênio. Em humanos, o aumento da mortalidade associa-se ao câncer de pulmão em adultos jovens após a exposição uterina a arsênio. Assim, o feto em desenvolvimento parece ser hipersensível à ação carcinogênica do metal.

Tratamento Para a intoxicação aguda causada pelo arsênio, o tratamento é sintomático, com especial atenção à reposição do volume de líquido e à manutenção da pressão sanguínea. O quelante oral penicilamina ou succimer (ácido 2,3-dimercaptosuccínico – DMSA) é eficiente na remoção do arsênio do organismo. Para a intoxicação crônica, a terapia com quelante não se mostrou eficaz no alívio dos sintomas. A melhor estratégia para a prevenção da intoxicação crônica pelo metal é a redução da exposição.

Cádmio

Cerca de 75% do cádmio produzido é usado em baterias, em especial as baterias de níquel-cádmio. Devido às suas propriedades não corrosivas, o cádmio tem sido usado na galvanoplastia ou ligas para resistência à corrosão. Também é usado como pigmento de cor para tintas e plásticos. Esse metal é obtido como um subproduto da fundição de zinco e chumbo.

Exposição Os alimentos constituem a principal fonte de cádmio para a população em geral. Muitas plantas acumulam prontamente o elemento do solo. Tanto as fontes naturais quanto as antropogênicas de contaminação por cádmio ocorrem no solo, incluindo detritos de emissões industriais, alguns fertilizantes, nas remediações do solo e no uso de água contendo cádmio para irrigação. Todos esses processos resultam em um lento, porém contínuo, aumento no nível de cádmio em vegetais ao longo dos anos. Frutos do mar, rins e fígado de animais podem acumular níveis relativamente altos do metal. O ar pode ser uma fonte significativa de exposição direta ou contaminação ambiental. O tabagismo é a principal fonte não ocupacional de exposição ao cádmio.

A inalação é a via predominante de exposição em ambientes ocupacionais. As ocupações potencialmente sob risco na exposição ao cádmio incluem aquelas envolvidas com o refino de minérios de zinco e chumbo, produção de ferro, fabricação de cimento, indústrias envolvendo a queima de combustíveis fósseis, fabricação de pigmentos de tintas, baterias de níquel-cádmio e galvanoplastia.

Toxicidade A toxicidade aguda pela ingestão de elevadas concentrações de cádmio na forma de bebidas ou alimentos altamente contaminados causa irritação grave do epitélio gastrintestinal, levando a náuseas, vômitos e dor abdominal. A inalação de fumos de cádmio ou outros materiais aquecidos contendo o metal pode produzir pneumonite aguda com edema pulmonar.

Os principais efeitos tóxicos a longo prazo resultantes da exposição a baixos níveis de cádmio são danos renais, doenças pulmonares obstrutivas, osteoporose e doenças cardiovasculares. O câncer é uma grande preocupação na exposição ocupacional ao metal. Os efeitos tóxicos crônicos do cádmio são claramente uma preocupação muito maior do que as raras exposições agudas ao metal.

Nefrotoxicidade O cádmio é tóxico às células tubulares e aos glomérulos, prejudicando notadamente a função renal e provocando proteinúria. Essas lesões consistem em uma necrose inicial das células tubulares e degeneração, progredindo para inflamação intersticial e fibrose. Devido ao potencial para toxicidade renal, há uma considerável preocupação com os níveis de ingestão de cádmio proveniente da dieta para a população em geral.

Doença pulmonar crônica A inalação de cádmio é tóxica ao sistema respiratório dependendo da dose e da duração da exposição. No homem, a doença pulmonar obstrutiva induzida pelo cádmio pode ter iniciação lenta, resulta de bronquite crônica e fibrose progressiva das vias aéreas inferiores, acompanhada de dano alveolar, levando ao enfisema. A função pulmonar é reduzida com dispneia, capacidade vital reduzida e aumento do volume residual.

Outras toxicidades A toxicidade do cádmio afeta o metabolismo do mineral e mudanças esqueléticas associadas, provavelmente relacionadas à perda do mineral, e incluem dor óssea, osteomalácia e/ou osteoporose. Estudos epidemiológicos sugerem que o cádmio pode ser um agente etiológico para a hipertensão essencial. A mitocôndria cardíaca pode ser o local da redução da contratilidade miocárdica induzida pelo metal. Estudos epidemiológicos sugerem uma relação entre o comportamento anormal e/ou diminuição da inteligência em crianças e adultos expostos ao cádmio.

Chumbo

O chumbo é um metal tóxico ubíquo detectável em praticamente todas as fases do ambiente inerte e em todos os sistemas biológicos. A eliminação gradual do uso da gasolina aditivada com chumbo e sua remoção de tintas, soldas e canos de fornecimento de água têm diminuído significativamente os níveis do metal no sangue da população em geral. A exposição ao chumbo em crianças ainda constitui um grave problema de saúde.

Exposição A tinta contendo chumbo é a principal fonte de exposição ao metal em crianças. Uma das maiores fontes ambientais de chumbo para bebês e crianças de até 4 anos de idade é a transferência do metal presente em lascas de tinta e na poeira do chão de casas mais antigas pelo hábito de levar as mãos à boca. O chumbo na poeira doméstica pode também vir de fora da residência (p. ex., do solo). A principal rota de exposição para a população em geral é por meio do alimento e da água. A ingestão de chumbo tem diminuído drasticamente nos últimos anos. Outras fontes potenciais de exposição ao metal são a prática recreativa de tiro, o carregamento manual de munição, a solda, a fabricação de joias, de cerâmica, de armas, o polimento de vidro, a pintura e a fabricação de vidros coloridos.

Toxicidade Os efeitos tóxicos do chumbo e o nível mínimo no sangue em que um efeito é possivelmente observado são apresentados na Tabela 23.1. O chumbo pode induzir uma série de efeitos adversos em humanos dependendo da dose e da duração da exposição. Os efeitos tóxicos variam da inibição de enzimas à produção de patologias graves ou morte. As crianças são mais sensíveis aos efeitos no sistema nervoso central, enquanto a neuropatia periférica, a nefropatia crônica e a hipertensão são preocupações em adultos. Outros tecidos-alvo incluem os sistemas digestório, imune, esquelético e reprodutivo. Os efeitos na biossíntese do heme fornecem um indicador bioquímico sensível, mesmo na ausência de outros efeitos detectáveis.

Efeitos neurológicos, neurocomportamentais e de desenvolvimento em crianças Sintomas de encefalopatia pelo chumbo têm início com letargia, vômito, irritabilidade, perda do apetite e tonturas, progredindo para ataxia e um nível reduzido de consciência, que pode levar ao coma e à morte. A recuperação é ge-

TABELA 23.1 Resumo das concentrações mais baixas em que os efeitos à saúde relacionados ao chumbo são observados

	Níveis de chumbo no sangue- μg/dL	
Efeitos	**Adultos**	**Crianças**
Neurológicos		
Encefalopatia (manifestada)	80-100	100-120
Déficit de audição	20	–
Déficit de QI	10-15	–
Efeitos no útero	10-15	–
↓ Velocidade de condução nervosa	40	40
Hematológicos		
Anemia	80-100	80-100
↑ ALA-U	40	40
↑ Protoporfirina eritrocitária	15	15
Inibição de ALA-D	10	10
Renais		
Nefropatia	40	40-60
Metabolismo da vitamina D	< 30?	–

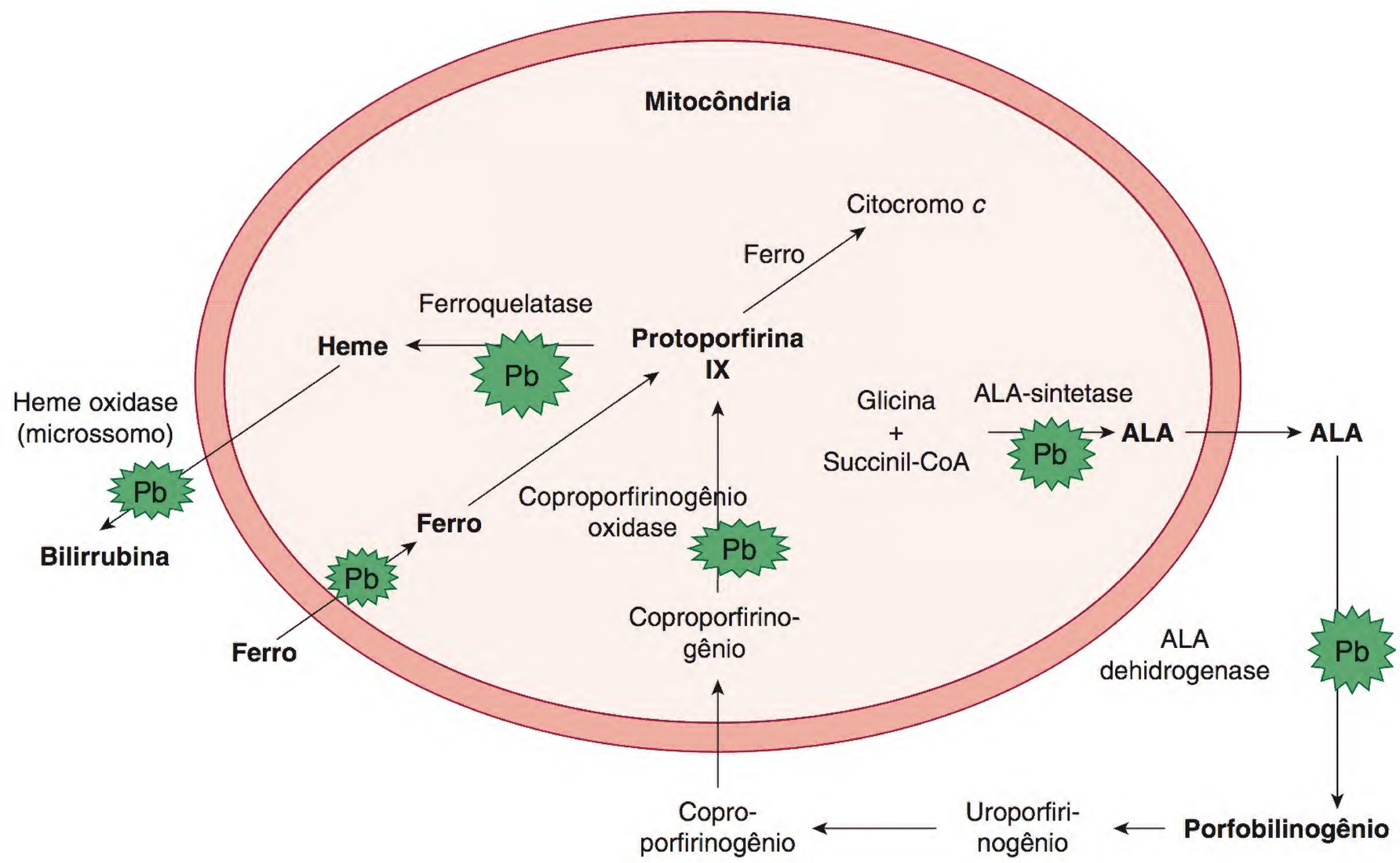


FIGURA 23.2 Interferência do chumbo na brossíntese do heme. ALA, δ-aminolevulínico; Pb, locais para efeitos do chumbo. Os principais locais de inibição do chumbo são ALA-desidrogenase e ferroquelatase.

ralmente acompanhada de sequelas, incluindo epilepsia, retardo mental e, em alguns casos, neuropatia óptica e cegueira.

Os indicadores mais sensíveis dos resultados neurológicos adversos são os testes psicomotores ou os índices de desenvolvimento mental e medições amplas do quociente de inteligência (QI). O chumbo pode agir como um substituto para o cálcio e/ou interromper a homeostase do mineral. O estímulo da proteína C quinase pode resultar na alteração da barreira hematencefálica. O chumbo afeta virtualmente todo o sistema neurotransmissor no cérebro, incluindo os sistemas glutamatérgico, dopaminérgico e colinérgico. Todos esses sistemas têm função importante na plasticidade sináptica e nos mecanismos celulares para a função cognitiva, a aprendizagem e a memória.

Efeitos neurológicos em adultos Os adultos com exposição ocupacional podem apresentar anormalidades em uma série de medidas neurocomportamentais. A neuropatia periférica é uma manifestação clássica da toxicidade do chumbo em adultos. Pé e pulso caídos podem ser observados em trabalhadores com exposição ocupacional excessiva ao metal. A neuropatia periférica é caracterizada pela desmielinização segmental e, possivelmente, degeneração axonal.

Efeitos hematológicos O chumbo apresenta inúmeros efeitos hematológicos, variando do aumento de porfirinas urinárias, coproporfirinas, ácido δ-aminolevulínico (ALA) e zinco-protoporfirina, até anemia. A via da biossíntese do heme e os locais de interferência do chumbo são apresentados na Figura 23.2. O efeito mais sensível do metal é a inibição do ácido δ-aminolevulínico desidratase (ALAD) e da ferroquelatase. O ALAD catalisa a condensação de duas unidades de ALA para formar porfobilinogênio (PBG). A inibição do ALAD resulta no acúmulo de ALA. A ferroquelatase catalisa a inserção de ferro no anel da protoporfirina para formar o heme. A inibição da ferroquelatase resulta no acúmulo da protoporfirina IX, que substitui o heme na molécula de hemoglobina, e, conforme os eritrócitos contendo protoporfirina IX circulam, o zinco é quelado no local geralmente ocupado pelo ferro. A anemia ocorre somente em casos muito acentuados de toxicidade pelo chumbo.

Toxicidade renal A nefrotoxicidade aguda pelo chumbo consiste em disfunção tubular proximal e pode ser revertida por tratamento com agentes quelantes. A nefrotoxicidade crônica pelo metal consiste em fibrose intersticial e perda progressiva dos néfrons, azotemia e falência renal. Nos rins, a nefrotoxicidade do chumbo afeta a síntese renal das enzimas contendo heme, tais como a hidroxilase contendo heme envolvida no metabolismo da vitamina D, causando efeitos nos ossos. A hiperuricemia com gota ocorre com mais frequência na presença de nefropatias pelo chumbo.

Efeitos no sistema cardiovascular A patogênese da hipertensão induzida pelo chumbo é multifatorial, compreendendo: (1) inativação do óxido nítrico endógeno e guanosina monofosfato cíclico (GMPc), possivelmente por meio de espécies reativas de oxigênio induzidas pelo chumbo; (2) mudanças no sistema renina-angiotensina-aldosterona e aumento da atividade simpática, que são importantes componentes humorais da hipertensão; (3) alterações nas funções ativadas pelo cálcio das células musculares lisas vasculares, incluindo a contratilidade ao diminuir a atividade de Na^+/K^+-ATPase e o estímulo da bomba de troca de Na^+/Ca^{2+}; e (4) um possível aumento na endotelina e no tromboxano.

Outros efeitos tóxicos O chumbo pode afetar a pressão sanguínea por meio de mudança na renina plasmática e na calicreína urinária, bem como provocar alterações nas funções ativadas

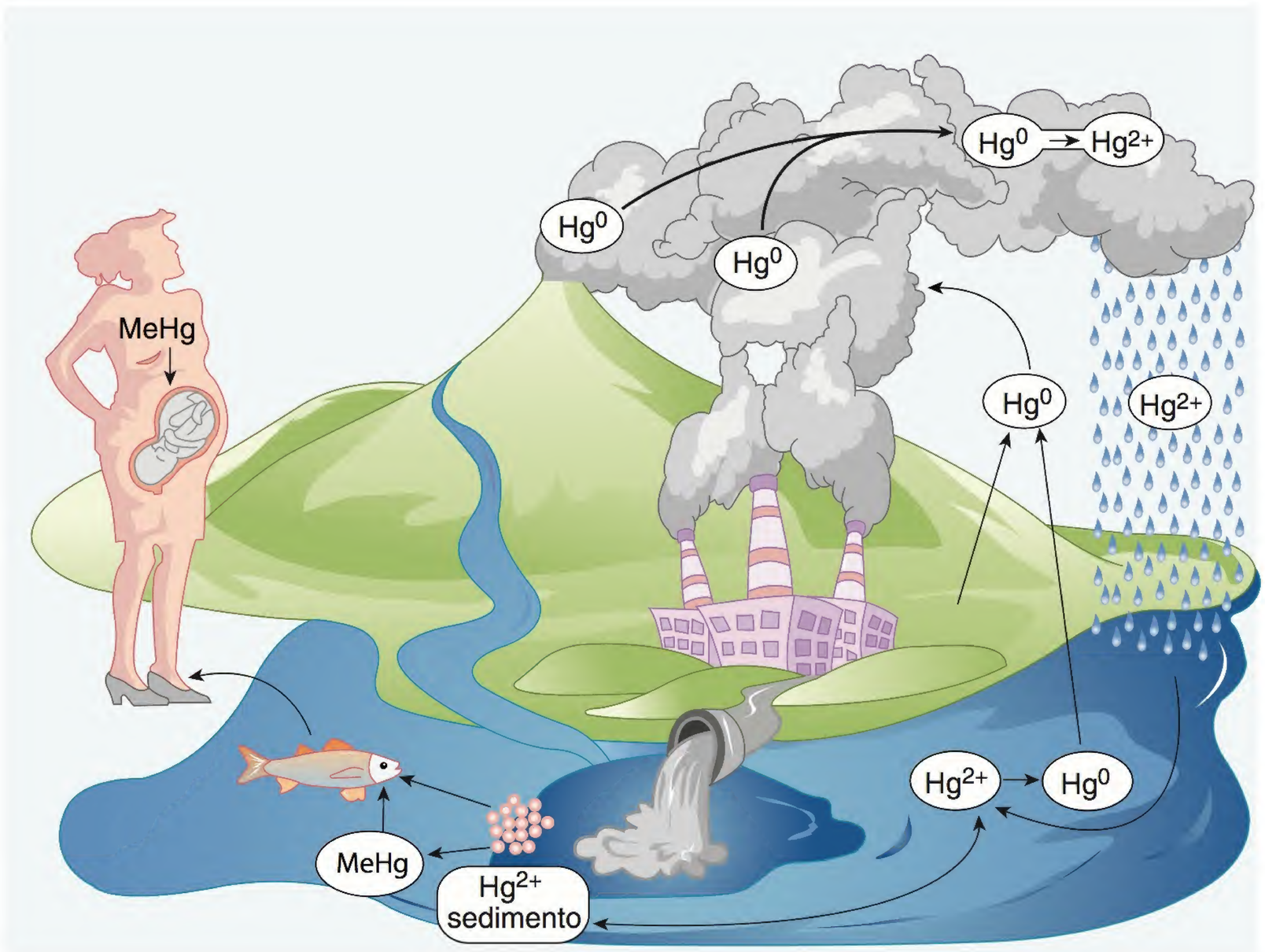


FIGURA 23.3 O movimento do mercúrio no ambiente. Na natureza, o vapor de mercúrio (Hg^0), que é um gás estável, evapora da superfície da terra (tanto do solo quanto da água) e é emitido por vulcões. As fontes antropogênicas compreendem as emissões resultantes da queima do carvão e incineradores municipais. Após cerca de 1 ano, o vapor de mercúrio é convertido em sua forma solúvel (Hg^{2+}) e retorna para a terra pela água da chuva; pode ser convertido novamente em vapor por microrganismos e reemitido para a atmosfera. Portanto, o mercúrio pode recircular por longos períodos. O mercúrio ligado a sedimentos aquáticos está sujeito à conversão microbiana em metilmercúrio, iniciando com o plâncton, depois com os peixes herbívoros e finalmente chegando aos peixes carnívoros e mamíferos marinhos. Essa biometilação e biomagnificação resulta na exposição humana ao metilmercúrio por meio do consumo de peixe e representa um risco à saúde humana, especialmente à do feto em desenvolvimento.

por cálcio nas células musculares lisas vasculares e mudanças na resposta às catecolaminas. Como um agente imunossupressor, o metal diminui as imunoglobulinas, os linfócitos B periféricos e outros componentes do sistema imune. A retenção e a mobilização do chumbo nos ossos ocorre por meio dos mesmos mecanismos envolvidos na regulação da entrada e da saída de cálcio. O chumbo também compete com o cálcio na absorção gastrintestinal. Sabe-se que o metal afeta os osteoblastos, osteoclastos e condrócitos, e tem sido associado com a osteoporose e a demora no reparo de fraturas. A toxicidade do chumbo tem sido relacionada com a esterilidade e com mortes neonatais em humanos. O chumbo, um carcinógeno do grupo 2B, induz tumores dos sistemas respiratório e digestório. Estudos epidemiológicos sugerem uma relação entre exposição ocupacional ao metal e câncer de pulmão, cérebro e bexiga entre trabalhadores a ele expostos.

Mercúrio

Também chamado de prata viva, o mercúrio metálico encontra-se no estado líquido na temperatura ambiente. O vapor de mercúrio (Hg^0) é muito mais perigoso do que sua forma líquida. O metal liga-se a outros elementos (tais como o cloro, o enxofre ou o oxigênio) para formar sais inorgânicos mercurosos (Hg^+) ou mercúricos (Hg^{2+}).

Ciclo global e ecotoxicologia O mercúrio exemplifica o movimento dos metais no meio ambiente (Fig. 23.3). O mercúrio atmosférico, na forma de vapor de mercúrio (Hg^0), é derivado da desgaseificação natural da crosta terrestre e de erupções vulcânicas, além da evaporação de oceanos e solos. Fontes antropogênicas tornaram-se um contribuinte significativo para o mercúrio atmosférico. Essas fontes compreendem as emissões da mineração e fundição de metais (mercúrio, ouro, cobre e zinco), da combustão do carvão, dos incineradores municipais e das indústrias do setor cloro-álcali. O metilmercúrio entra na cadeia alimentar aquática iniciando com o plâncton, depois com os peixes herbívoros e finalmente chegando aos peixes carnívoros e animais marinhos. No topo da cadeia alimentar, o mercúrio tecidual pode atingir níveis 1.800 a 80 mil vezes maiores do que os níveis da água circundante. Essa biometilação e bioconcentração resulta na exposição humana ao metilmercúrio por meio do consumo de peixes.

Exposição

Exposição alimentar O consumo de peixe é a principal rota de exposição ao metilmercúrio. Os compostos inorgânicos do mercúrio também são encontrados nos alimentos. A fonte dos compostos mercuriais inorgânicos é desconhecida, mas as quantidades ingeridas são muito menores que os níveis tóxicos conhe-

cidos. O mercúrio na atmosfera e na água potável é geralmente tão baixo que não constitui uma fonte importante de exposição da população em geral.

Exposição ocupacional A inalação do vapor de mercúrio pode ocorrer na exposição do trabalhador na indústria cloro-álcali. A exposição ocupacional pode ocorrer durante a fabricação de uma variedade de instrumentos científicos e aparelhos de controle elétricos, na odontologia, em que amálgamas de mercúrio são usados na restauração dentária, e na extração de ouro.

Exposição acidental A exposição ao mercúrio elementar pode ocorrer pela quebra de frascos contendo mercúrio, aparelhos médicos, barômetros e derretimento de restaurações de amálgama dentário para recuperação de prata. A inalação de grandes quantidades de vapor de mercúrio pode ser letal.

Toxicidade

Vapor de mercúrio A inalação do vapor de mercúrio em concentrações extremamente altas pode produzir bronquite aguda e corrosiva, pneumonite intersticial e, se não letal, pode estar associada a efeitos no sistema nervoso central, como tremor ou aumento da irritabilidade. Essa condição foi denominada de *síndrome astênica vegetativa*, ou *micromercurialismo*. A identificação da síndrome requer sintomas neurastênicos e três ou mais dos seguintes achados clínicos: tremor, aumento da tireoide, aumento da captação de iodo radioativo na tireoide, pulso lábil, taquicardia, dermografismo, gengivite, mudanças hematológicas ou aumento da secreção de mercúrio na urina.

Mercúrio inorgânico O rim é o principal órgão-alvo do mercúrio inorgânico. Embora uma alta dose de cloreto de mercúrio seja diretamente tóxica às células tubulares renais, a exposição crônica a sais de mercúrio, a baixas doses, pode induzir uma doença glomerular imunológica. Pessoas expostas podem desenvolver proteinúria, que é reversível após terem sido removidas da exposição.

Metilmercúrio O maior efeito à saúde humana decorrente da exposição ao metilmercúrio é a neurotoxicidade. As manifestações clínicas de neurotoxicidade incluem parestesias (sensação de dormência e formigamento ao redor da boca e nos lábios) e ataxia, manifestada por dificuldade em andar, e dificuldade em engolir e articular palavras. Outros sinais incluem neurastenia (sensação generalizada de fraqueza), perda de visão e audição, espasticidade e tremor. Esses sintomas podem progredir para coma e morte. O efeito agudo geral é um edema cerebral, mas com a destruição prolongada da massa cinzenta e subsequente gliose, resultando em atrofia cerebral.

Mecanismo de toxicidade A ligação de alta afinidade do mercúrio divalente aos grupos sulfidrilas de proteínas nas células é um mecanismo importante para a produção de danos celulares não específicos ou até mesmo a morte celular. Outros mecanismos gerais, como a interrupção da formação de microtúbulos, a inibição de enzimas, o estresse oxidativo, a interrupção da síntese de proteínas e DNA e respostas autoimunes, também foram propostos. O mercúrio causa a superexpressão dos genes relacionados ao sistema glutationa e metalotioneína em tecidos de ratos.

Níquel

O níquel metálico é produzido dos minérios de sulfeto e óxido de silicato. É usado em várias ligas metálicas, como aços inoxidáveis, e na galvanoplastia. A exposição ocupacional ao níquel ocorre por meio da inalação de aerossóis, poeiras ou fumos contendo o metal, ou pelo contato dérmico em trabalhadores envolvidos na produção do níquel (mineração, moagem, refino, etc.) e em operações que o utilizam (fundição, galvanoplastia, solda, baterias níquel-cádmio, etc.). O níquel é onipresente na natureza, e a população em geral está exposta a baixos níveis do metal no ar, na fumaça do cigarro, na água e nos alimentos.

Toxicidade

Dermatite de contato A dermatite de contato induzida pelo níquel é o efeito adverso mais comum na exposição ao metal e é encontrada em 10 a 20% da população em geral. Pode resultar da exposição ao níquel no ar, em soluções líquidas ou pelo contato prolongado da pele com itens contendo níquel, tais como moedas e joias.

Intoxicação por níquel carbonila O níquel carbonila é extremamente tóxico. A intoxicação começa com cefaleia, náuseas, vômitos e dor epigástrica ou no peito, seguidos por tosse, hiperpneia, cianose, sintomas gastrintestinais e fraqueza. Os sintomas podem ser acompanhados por febre e leucocitose. Casos mais graves podem progredir para pneumonia, falência respiratória e, por fim, edema cerebral e morte.

Carcinogenicidade O níquel é um carcinógeno do sistema respiratório em trabalhadores de indústrias de refino do metal. Os riscos são mais altos para câncer pulmonar e nasal entre trabalhadores altamente expostos ao sulfeto de níquel, ao óxido de níquel e ao níquel metálico.

METAIS ESSENCIAIS COM POTENCIAL PARA TOXICIDADE

Este grupo inclui oito metais geralmente aceitos como essenciais: cobalto, cobre, ferro, magnésio, manganês, molibdênio, selênio e zinco. Todos podem produzir alguma toxicidade para órgãos-alvo (Tab. 23.2)

Cobre

Alimentos, bebidas e água potável são as principais fontes de exposição para a população em geral. A exposição ao cobre na indústria ocorre principalmente por particulados inalados na mineração ou fumos metálicos em operações de fundição, solda ou atividades relacionadas.

Toxicidade Os efeitos adversos mais relatados pelo excesso da ingestão de cobre são os distúrbios gastrintestinais. Náuseas, vômito e dor abdominal têm sido relatados após a ingestão de soluções de sulfato de cobre ou bebidas armazenadas em recipientes que liberam o metal. A ingestão de água potável com > 3 mg Cu/L produzirá sintomas gastrintestinais. A ingestão de grandes quantidades de sais de cobre, mais frequentemente sulfato de cobre, pode produzir necrose hepática e morte.

TABELA 23.2 Toxicidade de vários metais

Metal	SNC	Sistema digestório	Pulmão	Rim	Fígado	Coração	Sangue	Pele
Alumínio	*		*					
Arsênio	*	*	*	*	*		*	
Berílio			*					*
Bismuto				*	*			*
Cádmio	*	*	*	*	*	*		
Cromo	*		*	*	*			*
Cobalto	*	*	*			*		*
Cobre		*					*	
Ferro	*	*	*		*		*	
Chumbo	*	*		*			*	*
Manganês	*		*					
Mercúrio	*	*	*	*				
Níquel	*		*					*
Selênio		*		*				*
Zinco		*					*	

Doenças hereditárias do metabolismo do cobre

Doença de Wilson É uma doença genética autossômica recessiva do metabolismo do cobre caracterizada pelo acúmulo excessivo do metal no fígado, no cérebro, nos rins e nas córneas. A ceruloplasmina sérica é baixa, e o cobre sérico não ligado à ceruloplasmina é elevado. A excreção urinária de cobre é alta. Anormalidades clínicas do sistema nervoso, do fígado, dos rins e das córneas estão relacionadas ao acúmulo de cobre. Pacientes com a doença de Wilson têm excreção de cobre biliar prejudicada, o que é considerado a causa fundamental da sobrecarga desse metal. A reversão do metabolismo anormal do cobre é obtida por meio de transplante de fígado, desde que o defeito básico esteja nesse órgão. A melhora clínica pode ser atingida com terapia de quelação.

Ferro

O ferro é um metal essencial para a eritropoiese e um componente-chave da hemoglobina, da mioglobina, das enzimas do grupo heme, do grupo das metaloflavoproteínas e das enzimas mitocondriais. Nos sistemas biológicos, o ferro existe principalmente nas formas ferrosa (+2) e férrica (+3). Considerações toxicológicas são importantes no caso da deficiência de ferro e nas exposições agudas acidentais e sobrecarga crônica de ferro devido à hemocromatose idiopática ou, ainda, como consequência de excesso do metal na dieta ou frequentes transfusões sanguíneas.

Toxicidade A intoxicação aguda pelo ferro decorrente da ingestão acidental de suplementos dietéticos contendo o metal é a causa mais comum de toxicidade aguda. A toxicidade grave ocorre após a ingestão de mais de 0,5 g de ferro ou de 2,5 g de sulfato ferroso. Essa toxicidade aparece entre 1 e 6 horas após a ingestão. Os sintomas compreendem dor abdominal, diarreia e vômitos. São particularmente preocupantes os sintomas de palidez ou cianose, acidose metabólica e colapso cardíaco. A morte pode ocorrer em crianças gravemente intoxicadas dentro de 24 horas.

A toxicidade crônica do ferro a partir da sobrecarga desse metal em adultos é um problema relativamente comum. Há três maneiras básicas pelas quais quantidades excessivas de ferro podem se acumular no organismo: (1) hemocromatose hereditária devido à absorção anormal de ferro pelo trato intestinal; (2) ingestão excessiva pela dieta ou preparações orais de ferro; e (3) repetidas transfusões de sangue para algum tipo de anemia refratária (*siderose transfusional*). O aumento de ferro no organismo pode desempenhar um papel no desenvolvimento de doenças cardiovasculares. Suspeita-se que o ferro possa agir como um catalisador para produzir danos de radicais livres, resultando em arteriosclerose e doenças cardíacas isquêmicas. Algumas doenças neurodegenerativas associadas com o metabolismo anômalo do ferro no cérebro incluem neuroferritinopatia, aceruloplasminemia e manganismo.

Zinco

É um metal essencial. A deficiência de zinco resulta em consequências graves à saúde. Entretanto, a toxicidade do zinco é relativamente incomum e ocorre somente em níveis muito altos de exposição. O zinco está presente na maioria dos produtos alimentícios, na água e no ar. A exposição ocupacional a poeiras e fumos de zinco metálico ocorre na mineração e na fundição do metal. O teor de zinco das substâncias em contato com o cobre galvanizado ou canos plásticos pode ser alto.

Essencialidade e deficiência Existem mais de 300 metaloenzimas de zinco cataliticamente ativas e 2 mil fatores de transcrição dependentes de zinco. O zinco participa de uma grande variedade de processos metabólicos; apoia um sistema imune saudável e é essencial para o crescimento e desenvolvimento normal durante a gravidez, a infância e a adolescência. A deficiência de zinco está relacionada a baixa ingestão desse metal na dieta, ingestão alimentar de fitase, doenças crônicas ou excessiva suplementação com ferro ou cobre. Sintomas da deficiência de zinco incluem retardo do crescimento, perda de apetite, alopecia, diarreia, função imune prejudicada, perda cognitiva, dermatite, atraso na cicatrização de ferimentos, anormalidades no paladar e prejuízo da função sexual. Os usos terapêuticos do zinco incluem tratamento da diarreia aguda em crianças com deficiência grave de zinco, tratamento da gripe comum, pelos seus efeitos antivirais e imunomoduladores, terapia da doença de Wilson, para ajudar a reduzir a carga de cobre e induzir a metalotioneína, e prevenção da cegueira na degeneração macular relacionada à idade.

Toxicidade Estresse gastrintestinal e diarreia foram relatados após a ingestão de bebidas armazenadas em latas galvanizadas. Após a inalação de óxido de zinco e, em menor extensão, outros componentes do zinco, o efeito mais comum é a "febre do fumo do metal", caracterizada por febre, dor no peito, calafrios, tosse, dispneia, náuseas, dor muscular, fadiga e leucocitose. A inalação aguda de altos níveis de cloreto de zinco, como no uso militar de "bombas de fumaça", resulta em danos mais pronunciados à membrana da mucosa, incluindo edema intersticial, fibrose, pneumonite, edema da mucosa brônquica e ulceração. Após a exposição a longo prazo a baixas doses de zinco, os sintomas geralmente resultam na diminuição da absorção de cobre pela dieta, levando a sintomas precoces de deficiência do metal, tais como diminuição do número de eritrócitos ou hematócrito diminuído.

Toxicidade neuronal O excesso de zinco liberado por agentes oxidantes pode agir como um potente neurotoxicante, contribuindo para danos cerebrais excitotóxicos. A liberação de zinco livre em excesso pode ser um fator que compõe o cenário para o desenvolvimento posterior da doença de Alzheimer.

METAIS RELACIONADOS À TERAPIA MÉDICA

Os metais que são utilizados para tratar inúmeras doenças humanas, como o alumínio, o bismuto, o ouro, o lítio e a platina, exercem alguma toxicidade (Tab. 23.2).

Alumínio

Os compostos químicos do alumínio ocorrem, em geral, no estado trivalente (Al^{3+}). Como um íon trivalente duro, o alumínio liga-se fortemente aos ligantes doadores de oxigênio, tais como o citrato e o fosfato. A exposição humana ao alumínio ocorre principalmente pelos alimentos e, de forma secundária, pela água potável. As exposições ocupacionais ao metal ocorrem durante a mineração e o processamento, bem como na solda com alumínio.

Toxicidade A maioria dos casos de toxicidade por alumínio em humanos é observada em pacientes com falência renal crônica ou em pessoas expostas ao alumínio nos locais de trabalho, sendo o pulmão, os ossos e o sistema nervoso central os órgãos mais afetados. O alumínio também pode produzir efeitos no desenvolvimento.

Toxicidade dos pulmões e dos ossos A exposição ocupacional à poeira de alumínio pode produzir fibrose pulmonar em humanos. A osteomalácia tem sido associada com a ingestão excessiva de antiácidos contendo alumínio em indivíduos saudáveis. Presume-se que isso seja devido à interferência com a absorção de fosfato intestinal. A osteomalácia também pode ocorrer em pacientes urêmicos expostos ao alumínio no líquido de diálise. Nesses pacientes, como os níveis do metal nos ossos são elevados, a osteomalácia pode advir de um efeito direto do alumínio na mineralização dos ossos.

Neurotoxicidade O alumínio é neurotóxico em animais de experimentação, com grande variação entre as espécies e idades. Em animais suscetíveis, tais como coelhos e gatos, a mudança patológica precoce mais proeminente é o acúmulo de emaranhados neurofibrilares em neurônios grandes, axônios proximais e dendritos de neurônios de muitas regiões cerebrais. Isso está associado com a perda das sinapses e atrofia da árvore dendrítica. Em outras espécies, a disfunção das funções cognitiva e motora e anormalidades comportamentais são frequentemente observadas.

Demência de diálise Uma síndrome neurológica progressiva tem sido relatada em pacientes em hemodiálise intermitente a longo prazo para o tratamento de falência renal crônica. O primeiro sintoma nesses pacientes é uma disfunção da fala seguida por demência, convulsões e mioclonia. O transtorno, que costuma aparecer após 3 a 7 anos de tratamento de diálise, pode ser devido à intoxicação por alumínio. A concentração de alumínio no cérebro, nos músculos e nos ossos aumenta nesses pacientes. As fontes para o excesso do metal podem ser a ingestão do hidróxido de alumínio geralmente dado a esses pacientes ou do alumínio contido no fluido de diálise. As altas concentrações de alumínio no soro podem estar relacionadas com o aumento dos níveis do hormônio da paratireoide, que se devem ao baixo teor de cálcio no sangue e osteodistrofia, comuns a pacientes com doenças renais crônicas. A síndrome pode ser prevenida evitando-se o uso de ligantes de fosfato oral contendo alumínio e monitorando-se o alumínio no dialisado.

Doença de Alzheimer Uma possível relação entre o alumínio e a doença de Alzheimer tem sido motivo de especulação por décadas. Níveis elevados de alumínio em cérebros com Alzheimer podem ser consequência, e não a causa da doença. A reduzida eficácia da barreira hematencefálica na doença de Alzheimer pode permitir a entrada de mais alumínio no cérebro. Além disso, estudos recentes têm levantado a possibilidade de que os métodos de coloração em estudos anteriores podem ter levado à contaminação por alumínio. Há conclusões conflitantes em estudos examinando o papel do alumínio na doença de Alzheimer. Entretanto, há cada vez mais evidências sugerindo uma ligação entre o alumínio no cérebro e outras doenças neurodegenerativas.

Lítio

O lítio é usado em baterias, ligas, catalisadores, materiais fotográficos e na indústria espacial. O hidreto de lítio produz hidrogênio em contato com a água e é usado na fabricação de tubos eletrônicos, em cerâmicas e em análises químicas. A contaminação da água subterrânea com o lítio proveniente do descarte de resíduos produzidos pelo homem pode ser um fator de risco para o ambiente aquático. O carbonato de lítio e o citrato de lítio são amplamente utilizados para o tratamento da mania e de transtornos bipolares.

Toxicocinética O lítio é prontamente absorvido pelo sistema digestório. É distribuído na água corporal total com maiores concentrações nos rins, na tireoide e nos ossos em comparação com outros tecidos. A excreção ocorre principalmente pelos rins, sendo que 80% do lítio filtrado é reabsorvido. O lítio pode ser um substituto do sódio ou do potássio em várias proteínas de transporte.

Toxicidade Exceto para o hidreto de lítio, nenhum outro sal é considerado perigoso, nem o metal é muito tóxico por si só. O hidreto de lítio é intensamente corrosivo e pode produzir queimaduras na pele devido à formação de hidróxidos. As respostas tóxicas à exposição ao lítio incluem mudanças neuromusculares (tremor, hiperirritabilidade muscular e ataxia), distúrbios no sistema nervoso central (fases de blecaute, ataques epiléticos, fala lenta, coma, retardo psicossomático e aumento da sede), distúrbios cardiovasculares (arritmia cardíaca, hipertensão e colapso circulatório), sintomas gastrintestinais (anorexia, náuseas e vômito) e danos renais (albuminúria e glicosúria).

A nefrotoxicidade crônica do lítio e a nefrite intersticial podem ocorrer com a exposição a longo prazo, mesmo se os níveis de lítio permanecerem dentro da faixa terapêutica. A neurotoxicidade crônica induzida pelo lítio, a nefrite e a disfunção da tireoide podem ocorrer, sobretudo em pacientes suscetíveis com diabetes insípido nefrogênica, idade avançada, funcionamento anormal da tireoide e disfunção renal.

Platina

Os compostos de platina são usados como catalisadores automotivos, em joias, eletrônicos e em ligas odontológicas.

Toxicidade A platina pode produzir reações hipersensíveis profundas em indivíduos suscetíveis. Os sinais da hipersensibilidade incluem urticária, dermatite cutânea de contato e problemas respiratórios, variando de irritação a síndrome asmática, após exposição à poeira de platina. As mudanças respiratórias e cutâneas, ou *platinose,* estão principalmente relacionadas a pessoas com história de exposição industrial a compostos solúveis, tais como cloroplatinado sódico.

Efeitos antitumorigênicos de complexos de platina Os complexos de platina são importantes agentes antitumorigênicos incluindo a cisplatina, a carboplatina e a oxaliplatina. São rotineiramente administrados, com frequência em combinação com outro fármacos anticancerígenos, no tratamento de uma ampla gama de malignidades, em especial, câncer testicular avançado e também cânceres da cabeça e do pescoço, da bexiga, do esôfago, do pulmão e dos ovários.

Efeitos carcinogênicos de complexos de platina Embora a cisplatina tenha atividade antitumorigênica, ela é considerada um provável carcinogênico em humanos e é claramente carcinogênica em roedores. Na verdade, em ratos deficientes em metalotioneína, a cisplatina pode induzir tumores em doses clinicamente relevantes.

Toxicidades de complexos antitumorigênicos de platina A cisplatina produz danos celulares tubulares distais e proximais, principalmente na região corticomedular, na qual a concentração de platina é mais alta. A perda de audição pode ocorrer, podendo ser unilateral ou bilateral, mas tende a ser mais frequente e severa com doses repetidas. Náuseas e vômito acentuado ocorrem na maioria dos pacientes que recebem complexos de platina, mas podem ser controlados com ondansetrona ou altas doses de corticosteroides.

REFERÊNCIAS

Hirner AV, Emons H (eds): *Organic Metal and Metalloid Species in the Environment: Analysis, Distribution, Processes and Toxicological Evaluation.* New York: Springer, 2004.

Nordberg GF, Fowler BA, Nordberg M, Friberg LT (eds): *Handbook on the Toxicology of Metals,* 3rd ed. Boston: Academic Press, 2007.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes alternativas NÃO é uma das principais rotas de excreção de metais?
   a. Suor
   b. Urina
   c. Respiração
   d. Fezes
   e. Cabelo

2. As metalotioneínas:
   a. são responsáveis pelo transporte de metais na corrente sanguínea.
   b. estão envolvidas na biotransformação de metais.
   c. provocam reações de hipersensibilidade.
   d. fornecem ligações de alta afinidade com cobre e mercúrio.
   e. estão envolvidas no transporte extracelular de metais.

3. Qual das seguintes proteínas de ligação de metais NÃO está corretamente emparelhada com o metal que liga?
   a. Transferrina – ferro
   b. Ceruloplasmina – cobre
   c. Metalotioneínas – zinco
   d. Ferritina – chumbo
   e. Albumina – ligação a metais não específicos

4. Qual dos seguintes grupos é MENOS provável de quelar metais?
   a. –COOH
   b. –Cl
   c. –NH
   d. –OH
   e. –SH

5. Qual é o mecanismo de toxicidade do arsênio (As)?
   a. Inibição da respiração mitocondrial
   b. Perda da ingestão de cálcio por meio dos transportadores de membrana
   c. Acúmulo no corpúsculo renal
   d. Abolição do gradiente sódio-potássio
   e. Destruição de surfactantes nos pulmões

6. A toxicidade do chumbo é, em grande parte, devida a sua habilidade de mimetizar e interferir no funcionamento normal de qual dos seguintes íons?
   a. Na^+
   b. K^+
   c. Cl^-
   d. Fe^{2+}
   e. Ca^{2+}

7. Qual das declarações a seguir sobre a toxicidade do mercúrio (Hg) é FALSA?
   a. Uma importante fonte de mercúrio ambiental é a água da chuva.
   b. O vapor de mercúrio é muito mais perigoso do que o mercúrio líquido.
   c. A inalação do vapor de mercúrio é caracterizada por fadiga e bradicardia.
   d. Microrganismos em corpos de água podem converter o vapor de mercúrio em metilmercúrio.
   e. O metilmercúrio é a principal fonte de toxicidade humana por mercúrio.

8. Qual das seguintes alternativas é um sintoma comum da exposição ao níquel?
   a. Falência renal
   b. Diarreia
   c. Cirrose hepática
   d. Dermatite de contato
   e. Taquicardia

9. Com relação à doença de Wilson, qual das afirmações a seguir é FALSA?
   a. A ceruloplasmina sérica é alta.
   b. A excreção urinária de cobre é alta.
   c. Há prejuízo na excreção biliar de cobre.
   d. A doença pode ser tratada com transplante de fígado.
   e. É uma doença recessiva autossômica.

10. Com relação a metais e terapia medicinal, qual das seguintes afirmações é FALSA?
    a. Há níveis elevados de alumínio nos cérebros de pacientes com doença de Alzheimer.
    b. O lítio é usado para tratar a depressão.
    c. A nefrotoxicidade crônica é um resultado comum do excesso de exposição ao alumínio.
    d. A platina é usada no tratamento de câncer.
    e. Sais de platina podem causar dermatite alérgica.

CAPÍTULO

24

Efeitos Tóxicos de Solventes e Vapores

James V. Bruckner, S. Satheesh Anand e D. Alan Warren

INTRODUÇÃO

EXISTE ALGUMA ENCEFALOPATIA CRÔNICA INDUZIDA POR SOLVENTES?

ABUSO DE SOLVENTES

CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

TOXICOCINÉTICA

- Absorção
- Transporte e distribuição
- Metabolismo
- Modelos fisiológicos

SUBPOPULAÇÕES POTENCIALMENTE SENSÍVEIS

- Fatores endógenos
  - Crianças
  - Idosos
  - Gênero
  - Genética
- Fatores exógenos
  - Indutores e inibidores da P450
  - Atividade física
  - Dieta

HIDROCARBONETOS CLORADOS

- Tricloroetileno
  - Metabolismo e modo de ação
  - Câncer hepático
  - Câncer renal
  - Câncer pulmonar
- Tetracloroetileno
- Cloreto de metileno
- Tetracloreto de carbono
- Clorofórmio

HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS

- Benzeno
- Tolueno
- Xilenos e etilbenzeno

ÁLCOOIS

- Etanol
- Metanol

GLICÓIS

- Etilenoglicol
- Propilenoglicol

GLICOL ÉTERES

- Toxicidade reprodutiva
- Toxicidade de desenvolvimento
- Hematotoxicidade

GASOLINA E ADITIVOS AUTOMOTIVOS

PONTOS-CHAVE

- O termo *solvente* refere-se a uma classe de líquidos orgânicos com variável lipofilicidade e volatilidade, pequeno tamanho molecular e ausência de carga.
- A absorção de compostos orgânicos voláteis inalados ocorre no alvéolo, com equilíbrio quase instantâneo com o sangue nos capilares pulmonares.
- Os solventes são facilmente absorvidos pelo sistema digestório e através da pele.
- A maioria dos solventes produz algum grau de depressão no sistema nervoso central.

INTRODUÇÃO

O termo *solvente* refere-se a uma classe de líquidos orgânicos de variável lipofilicidade e volatilidade, pequeno tamanho molecular e ausência de carga. Solventes são facilmente absorvidos pelos pulmões, pela pele e pelo sistema digestório. Em geral, a lipofilicidade dos solventes aumenta com o aumento do peso molecular, enquanto a volatilidade diminui. Solventes são frequentemente utilizados para dissolver, diluir ou dispersar materiais que são insolúveis em água. A maioria dos solventes é obtida a partir do refino do petróleo. Muitos, como naftas e gasolina, são misturas complexas consistindo de centenas de compostos.

Os solventes são classificados, em grande parte, de acordo com a estrutura molecular ou grupo funcional. Classes de solventes incluem hidrocarbonetos alifáticos, muitos dos quais são clorados (halocarbonos), hidrocarbonetos aromáticos, álcoois, éteres, ésteres/acetatos, amidas/aminas, aldeídos, cetonas e misturas complexas sem classificação. Os principais determinantes da toxicidade inerente de um solvente são: (1) o número de átomos de carbono; (2) se é saturado ou se tem ligações duplas ou triplas entre átomos de carbono adjacentes; (3) sua configuração (i.e., cadeia linear, cadeia ramificada ou cíclica); e (4) a presença de grupos funcionais. Pequenas diferenças na estrutura química podem acarretar grandes diferenças na toxicidade dos solventes.

Quase todas as pessoas são expostas a solventes durante as atividades diárias normais. A exposição ambiental aos solventes presentes no ar e nas águas subterrâneas ocorre por vias de exposição múltiplas (Fig. 24.1). Apesar de não estar ilustrado na figura, o uso doméstico de água contaminada por solvente pode resultar na absorção deste pelas vias inalatória, dérmica e oral. Em muitos casos, a avaliação do risco ambiental exige que os riscos sejam determinados para indivíduos fisiologicamente diferentes expostos a diversos solventes por vias de exposição múltiplas.

Nos Estados Unidos, a Occupational Safety and Health Administration (OSHA), órgão do Department of Labor, promulga padrões legalmente estabelecidos (PELs; *permissible exposure li-*

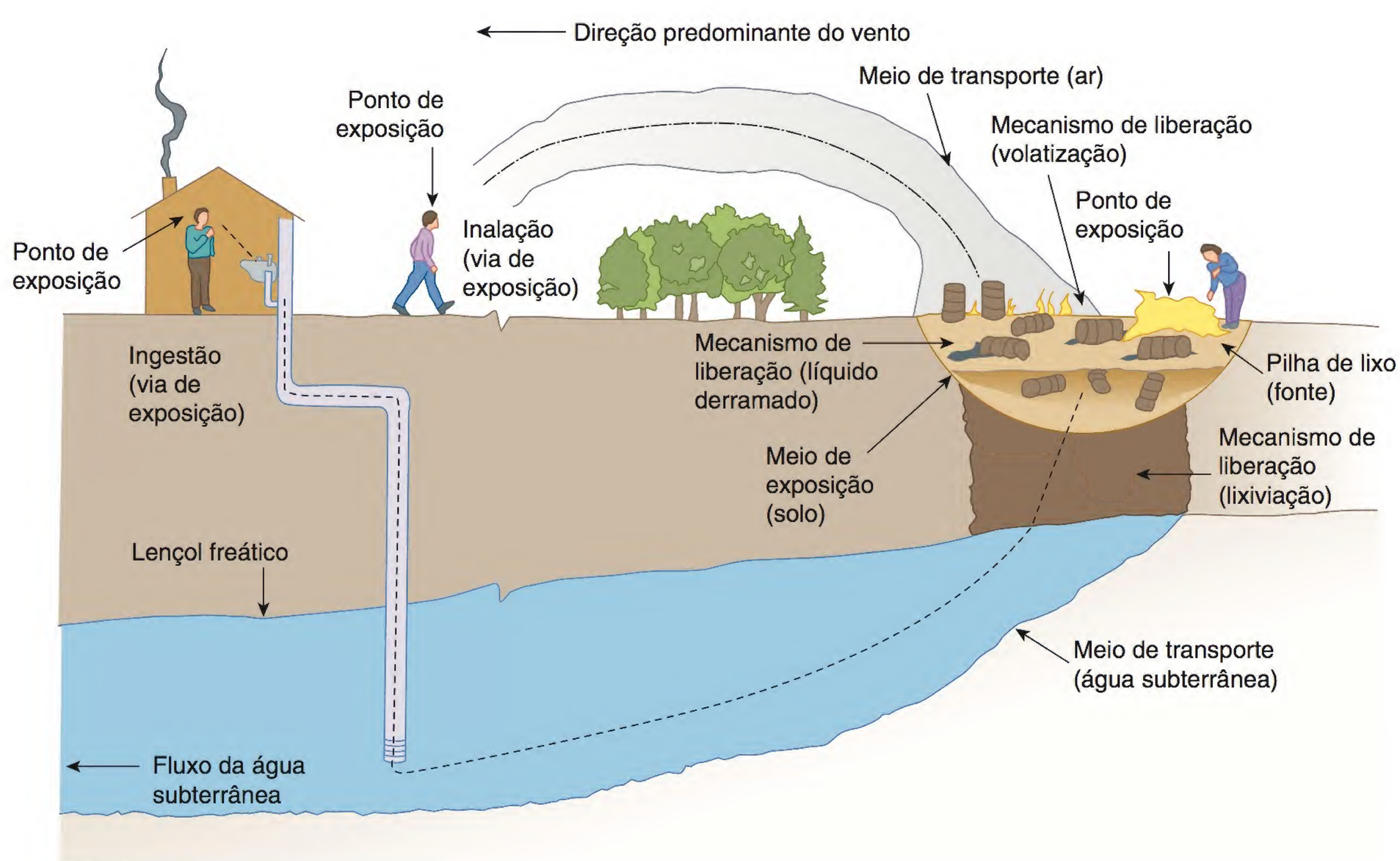


FIGURA 24.1 Vias e fontes de exposição a solventes. (De: EPA: *Risk Assessment Guidance for Superfund. Human Health Evaluation Manual Part A, Interim Final*. Washington, DC: Office of Emergency and Remedial Response, 1989.)

mits) para mais de 100 solventes. A maioria dos PELs existentes foi adotada a partir da relação dos valores limites de tolerância (TLVs; *threshold limit values*), publicados pela American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH). Os TLVs da ACGIH estabelecidos para uma jornada de trabalho de 8 horas, considerando uma semana de trabalho de 40 horas, são projetados para proteger os trabalhadores durante uma vida inteira de trabalho. Seus limites de exposição de curto prazo (STELs; *short-term exposure limits*) e os valores máximos foram projetados para protegê-los dos efeitos agudos de exposições elevadas e de curta duração a solventes. Se justificada a possibilidade de exposição dérmica com baixo risco, a ACGIH poderá indicar uma nota de que uma exposição dérmica significativa é possível.

A maioria das exposições a solventes envolve uma mistura de produtos químicos, em vez de um único composto. Apesar do frequente pressuposto de que os efeitos tóxicos de múltiplos solventes sejam aditivos, eles também podem interagir sinérgica ou antagonicamente.

Apesar de alguns solventes serem menos nocivos do que outros, todos podem causar efeitos tóxicos. A maioria tem potencial de induzir narcose e causar irritação respiratória e de mucosas. Numerosos solventes são carcinogênicos aos animais, mas apenas alguns são classificados como carcinogênicos humanos conhecidos.

EXISTE ALGUMA ENCEFALOPATIA CRÔNICA INDUZIDA POR SOLVENTES?

Discussões substanciais têm analisado se a exposição crônica, em baixas doses, a praticamente qualquer solvente ou mistura de solventes pode produzir um padrão de disfunção neurológica referido como *síndrome de pintores*, *síndrome do solvente orgânico*, *síndrome psico-orgânica* e *encefalopatia crônica do solvente* (ECS). A ECS é caracterizada por sintomas inespecíficos (p. ex., cefaleia, fadiga e distúrbios do sono) com ou sem alterações na função neuropsicológica. Uma forma reversível da ECS, a *síndrome neurastênica*, consiste apenas em sintomas. As formas "leve" e "grave" são acompanhadas por sinais objetivos de disfunção neuropsicológica que podem ou não ser totalmente reversíveis. Estudos clínicos epidemiológicos bem delineados e controlados são necessários para resolver essa controvérsia da ECS.

ABUSO DE SOLVENTES

Vários solventes são inalados intencionalmente para atingir um estado de intoxicação, com euforia, delírios e sedação, assim como alucinações visuais e auditivas. O abuso de solventes é uma situação de exposição única, na qual os participantes se submetem repetidamente a concentrações de vapor altas o suficiente para produzir efeitos tão extremos como inconsciência. Esses solventes podem ser inalados pelo nariz ou pela boca, aspirando (*sniffing*) ou inalando (*snorting*) vapores de recipientes ou pulverizando aerossóis diretamente no nariz ou na boca; *bagging* por inalação de vapores de substâncias pulverizadas ou depositadas dentro de um saco plástico ou de papel; ou *huffing*, a partir de um pano encharcado de solvente colocado na boca. Solventes podem causar dependência e, muitas vezes, são utilizados em combinação com outras drogas. Por estarem presentes em domicílios e por serem produtos comerciais relativamente baratos, estão disponíveis para crianças e adolescentes.

CONTAMINAÇÃO AMBIENTAL

A maioria dos solventes ingressa no ambiente por meio da evaporação (Fig. 24.1). A maior parte dos compostos orgânicos voláteis (COVs) volatiliza quando os produtos que os contenham (p. ex., propulsores de aerossóis, solventes de tintas, produtos de limpeza e fumigantes) são utilizados como pretendido. A perda de solventes na atmosfera também ocorre durante as atividades de produção, processamento, armazenamento e transporte. O vento dilui e dispersa vapores de solventes por todo o mundo. Concentrações atmosféricas de compostos orgânicos voláteis são, em geral, extremamente baixas, apesar das altas concentrações medidas em áreas urbanas, ao redor de plantas petroquímicas e nas imediações dos locais onde estão presentes resíduos perigosos.

A contaminação de água potável por solventes é de grande preocupação para a saúde. Os solventes derramados no chão podem penetrar no solo e migrar até alcançarem as águas subterrâneas ou um material impermeável. Todos os solventes são solúveis em água em alguma extensão. As concentrações diminuem rapidamente após os COVs entrarem em corpos d'água, sobretudo devido à diluição e à evaporação. Em águas superficiais, os solventes migram para a superfície, onde evaporam em grande parte, ou migram para o fundo, de acordo com sua densidade. Compostos orgânicos voláteis na superfície irão evaporar amplamente. O destino de COVs presentes nas profundezas depende de sua solubilidade na água ou de misturarem-se por ação das correntes ou de ondas e, então, atingirem a superfície. Em águas subterrâneas, tendem a permanecer retidos até que a água atinja a superfície.

TOXICOCINÉTICA

Estudos de toxicocinética visam delinear a absorção e a deposição de agentes químicos no organismo. A toxicidade é um processo dinâmico, no qual o grau e a duração da lesão de um tecido-alvo dependem do efeito de processos toxicodinâmicos (TD) e de processos cinéticos (TC), da interação com componentes celulares e do reparo dos tecidos.

Volatilidade e lipofilicidade são duas das propriedades mais importantes dos solventes que determinam sua absorção e deposição no corpo. A lipofilicidade também pode variar de muito solúvel em água (p. ex., glicóis e álcoois) para muito lipossolúvel (p. ex., hidrocarbonetos halogenados e hidrocarbonetos aromáticos). Muitos solventes têm um peso molecular relativamente baixo e não têm cargas, permitindo sua difusão passiva pelas membranas de áreas de maior concentração para áreas de menor concentração.

Absorção

A maior parte da absorção sistêmica dos COVs inalados ocorre nos alvéolos, com alguma absorção ocorrendo no trato respiratório superior. Os gases nos alvéolos equilibram quase instantaneamente com o sangue nos capilares pulmonares. Co-

eficientes de partição (CPs) sangue:ar de COV podem ser definidos como a razão da concentração de COV atingida entre dois diferentes meios em equilíbrio. Solventes mais hidrofílicos têm relativamente maiores CPs sangue:ar, que favorecem a extensa captação. Devido à difusão dos COVs de áreas de alta para baixa concentração, o aumento da taxa de respiração (para manter uma alta concentração alveolar) e do débito cardíaco/fluxo sanguíneo pulmonar (para manter um amplo gradiente de concentração para remoção de sangue capilar contendo o COV) aumenta a absorção pulmonar.

Os solventes são bem absorvidos pelo sistema digestório. Níveis sanguíneos máximos são observados minutos após a administração, embora a presença de alimentos no sistema digestório possa retardar a absorção. Em geral, sugere-se que 100% de uma dose oral da maioria dos solventes é absorvida sistemicamente. O veículo ou diluente no qual um solvente é ingerido pode afetar a absorção e a TC do composto.

A absorção de solventes através da pele pode resultar em efeitos locais e sistêmicos. Solventes penetram o estrato córneo por difusão passiva. Determinantes da taxa de absorção dérmica de solventes incluem a concentração química, a área de superfície exposta, a duração da exposição, a integridade e a espessura do estrato córneo, a lipofilicidade e o peso molecular do solvente.

Transporte e distribuição

Solventes absorvidos no sistema digestório via sistema porta estão sujeitos a absorção/eliminação pelo fígado e exalação pelos pulmões durante sua primeira passagem ao longo dessa via de absorção. Esses solventes, que são metabolizados e bastante voláteis, são eliminados de maneira mais eficiente antes de entrarem no sangue arterial. A eliminação hepática de primeira passagem depende do agente químico e da velocidade com que eles chegam ao fígado. Acredita-se que a eliminação pulmonar de primeira passagem, em contraste, seja um processo de primeira ordem, independentemente da concentração química no sangue.

Os solventes transportados pelo sangue arterial são distribuídos de acordo com a taxa de fluxo sanguíneo tecidual e do coeficiente de partição tecido:sangue do referido solvente. Solventes relativamente hidrofílicos solubilizam em diferentes graus no plasma. Solventes lipofílicos não se ligam às proteínas plasmáticas ou à hemoglobina, mas dividem-se em sítios hidrofóbicos nas moléculas. Distribuem-se nos fosfolipídios, nas lipoproteínas e no colesterol presentes no sangue.

Níveis sanguíneos de solventes caem rapidamente durante a fase inicial de eliminação. Essa fase de redistribuição é caracterizada por rápida difusão do solvente do sangue para a maioria dos tecidos. O equilíbrio do tecido adiposo é prolongado devido à pequena fração do débito cardíaco (~3%) que atinge os depósitos de gordura. A gordura corporal aumenta o volume de distribuição e a carga corporal total de solventes lipofílicos.

Metabolismo

A biotransformação pode modular a toxicidade dos solventes. Muitos são pouco solúveis em água e devem ser convertidos em derivados relativamente hidrossolúveis, que podem ser eliminados de maneira mais fácil pela urina, grande parte aquosa, e/ou pela bile. Alguns solventes podem sofrer bioativação e produzir metabólitos reativos citotóxicos e/ou mutagênicos.

Modelos fisiológicos

Modelos toxicocinéticos com base na fisiologia (*physiologically based toxicokinetic models* – PBTK) são usados para relacionar a dose administrada à porção de dose bioativa nos tecidos. Com o conhecimento fisiológico do animal testado ou do tecido-alvo, modelos toxicodinâmicos com base na fisiologia (*physiologically based toxicodynamic models* – PBTD) podem ser desenvolvidos. Portanto, modelos de toxicocinética e toxicodinâmica com base na fisiologia (PBTK/TD) são bem adequados para extrapolação interespécies, já que valores fisiológicos e parâmetros metabólicos humanos podem ser inseridos na modelagem e que simulações são feitas gerando doses nos tecidos-alvo e efeitos nos humanos. Assim, exposições a solventes necessárias para produzir experimentalmente o mesmo efeito dose/tecido-alvo dependente em humanos, como aquelas relacionadas à inaceitável incidência de câncer em animais testados, podem ser determinadas, em alguns casos, com razoável segurança. Nos poucos casos em que pode ocorrer diferença interespécies na sensibilidade dos tecidos-alvo, modelos PBTK podem ser utilizados para prever doses toxicologicamente efetivas no órgão-alvo.

SUBPOPULAÇÕES POTENCIALMENTE SENSÍVEIS

Fatores endógenos

Crianças Limitada informação está disponível sobre o potencial tóxico de solventes em crianças. A maioria das diferenças idade-dependente é menor que uma ordem de magnitude, variando não mais do que duas a três vezes. Quanto mais jovem e imaturo o indivíduo, maior a diferença com os adultos.

A absorção digestiva de solventes varia pouco com a idade, porque a maioria deles é absorvida por difusão passiva. A absorção sistêmica de COVs inalados pode ser maior em bebês e crianças do que em adultos, devido ao maior débito cardíaco e à maior frequência respiratória, apesar de sua menor área de superfície alveolar. A água extracelular, expressa como porcentagem do peso corporal, é maior em recém-nascidos e diminui gradualmente durante a infância. O conteúdo de gordura corporal é alto dos ~ 1/2 aos 3 anos de idade, diminuindo de forma progressiva até a adolescência, quando aumenta novamente em jovens do sexo feminino. Solventes lipofílicos acumulam-se no tecido adiposo, portanto mais gordura corporal resultaria em maior quantidade e menor depuração de agentes químicos.

Alterações no metabolismo de xenobióticos durante a maturação podem afetar a suscetibilidade à toxicidade dos solventes. Isoformas de P450 desenvolvem-se de forma assíncrona. O aumento das taxas de metabolismo, excreção urinária e exalação por crianças deve acelerar a eliminação e reduzir a quantidade de solventes do corpo. No entanto, o efeito da imaturidade na disposição e na toxicidade dos solventes é difícil de prever.

Idosos A idade influencia a distribuição dos xenobióticos no organismo, bem como seu metabolismo e eliminação. Com o envelhecimento, a gordura corporal costuma aumentar substancialmente à custa da massa magra e de níveis de água do corpo. Assim, solventes relativamente polares tendem a atingir níveis mais elevados no sangue durante as exposições. Solventes relati-

vamente lipossolúveis acumulam-se no tecido adiposo e são liberados de forma lenta. O débito cardíaco e o fluxo de sangue renal e hepático são diminuídos nos idosos.

Os idosos, assim como as crianças, podem ser mais ou menos sensíveis à toxicidade de solventes do que os adultos jovens. Uma maior toxicidade em um sistema poderia ser devido ao aumento do dano inflamatório ou à desregulação de citocinas relacionada com a idade. Outras fontes importantes de variabilidade e complexidade em populações geriátricas incluem uma nutrição inadequada, a prevalência de estados patológicos e o uso simultâneo de vários medicamentos.

Gênero Diferenças fisiológicas e bioquímicas entre homens e mulheres têm potencial para alterar a quantidade nos tecidos e os efeitos de alguns solventes sobre a saúde. Considerando que a maioria dos modelos preditivos sugere que os efeitos de toxicantes são independentes de sexo, diferenças físicas, tais como a tendência dos homens de terem mais massa magra e maior dimensão corporal, poderiam causar diferenças fisiológicas.

Genética Polimorfismos genéticos para a biotransformação ocorrem com diferentes frequências em diferentes grupos étnicos. Polimorfismos de enzimas metabolizadoras de xenobióticos podem afetar a quantidade e a qualidade das enzimas, além dos resultados das exposições a solventes em diferentes grupos raciais. É difícil diferenciar a influência das características genéticas da influência do *status* socioeconômico, do estilo de vida e de localização geográfica.

Fatores exógenos

Indutores e inibidores da P450 Pré-exposição a produtos químicos que induzem ou inibem as enzimas de biotransformação pode potencializar ou reduzir a toxicidade de doses elevadas de solventes que são metabolizados. Inibidores poderiam, em geral, ser antecipados para aumentar a toxicidade de solventes que são metabolicamente inativados e proteger os pacientes de solventes que sofrem ativação metabólica.

Atividade física O exercício aumenta a ventilação alveolar e o débito cardíaco/fluxo sanguíneo pulmonar. Solventes polares com coeficientes de partição sangue:ar relativamente altos (p. ex., acetona, etanol e etilenoglicol [EG]) são rapidamente absorvidos para a circulação pulmonar. Esses agentes químicos limitam a taxa da ventilação alveolar. Em contraste, o fluxo sanguíneo pulmonar e o metabolismo são limitantes para a absorção dos solventes mais lipofílicos. Exercícios físicos intensos podem aumentar a captação pulmonar de solventes relativamente polares em até cinco vezes em seres humanos. Exercícios leves dobram a absorção de solventes relativamente lipossolúveis, mas nenhum novo aumento ocorre em cargas de trabalho mais elevadas. O fluxo sanguíneo para o fígado e os rins diminui com o exercício, podendo diminuir a biotransformação dos solventes metabolizados e a eliminação urinária.

Dieta A presença de alimentos no estômago e no intestino pode inibir a absorção de agentes químicos ingeridos, evitando o contato destes com o epitélio do tubo digestivo. Compostos orgânicos voláteis são distribuídos nos lipídeos provenientes da dieta no sistema digestório, em grande parte permanecendo lá até os lipídeos serem emulsificados e digeridos. A alimentação resulta no aumento do fluxo sanguíneo esplênico, o que favorece a absorção digestiva, o fluxo sanguíneo hepático e a biotransformação. Os alimentos podem conter certos componentes naturais, praguicidas e outros compostos químicos que podem aumentar ou reduzir o metabolismo do solvente.

HIDROCARBONETOS CLORADOS

Tricloroetileno

O 1,1,2-tricloroetileno (TCE) é um solvente largamente utilizado como desengordurante para metais. Embora os dados atuais sustentem fraca associação entre exposição a TCE e mieloma múltiplo, doença de Hodgkin e cânceres de próstata, pele, colo uterino e renal, esse é um tópico de muito debate.

Metabolismo e modo de ação As toxicidades associadas com o TCE são predominantemente mediadas mais pelos metabólitos do que pelo composto original. Mesmo os efeitos depressores do sistema nervoso central (SNC) causados pelo TCE são, em parte, devido às propriedades sedativas dos metabólitos tricloroetanol (TCOH) e clorofórmio. Após a absorção oral ou inalatória, a maior parte do TCE sofre oxidação via citocromo P450, com uma pequena proporção sendo conjugada com a glutationa. As vias metabólicas a seguir são implicadas na carcinogenicidade do TCE: metabólito(s) reativo(s) da via GSH em tumores renais em ratos e metabólitos oxidativos em tumores de fígado e pulmão em camundongos.

Câncer hepático TCE induz câncer de fígado em camundongos B6C3F1, mas não em ratos. Essa suscetibilidade diferenciada é devida à maior capacidade dos camundongos de metabolizar o TCE em um metabólito oxidativo que estimula a proliferação peroxissomal. A propagação resulta em um potencial aumentado para dano oxidativo ao DNA e diminuição da comunicação intercelular juncional tipo *gap*, os quais têm sido implicados na transformação neoplásica.

Câncer renal A exposição ao TCE pela via inalatória ou oral resulta em tumores renais em ratos machos, porém não em fêmeas. A suscetibilidade dos ratos machos pode ser explicada por sua maior capacidade de metabolizar o TCE via rota GSH. Acredita-se que os tumores renais induzidos pelo TCE são resultantes dos metabólitos reativos dessa rota de alquilação nucleofílica celular, incluindo DNA. As mutações de DNA resultantes levam a alterações na expressão do gene, as quais, por sua vez, provocam transformações neoplásicas e tumorigênese por meio de uma rota genotóxica.

Alternativamente, a citotoxicidade de células tubulares proximais e a subsequente formação de tumores via um modo de ação não genotóxico poderiam ser induzidas por metabólitos reativos que causam estresse oxidativo, alquilação das proteínas citosólicas e mitocondriais, intensa depleção de ATP e perturbação da homeostase do Ca^{2+}. Necrose tubular renal com subsequente proliferação reparativa pode alterar a expressão de genes e, por sua vez, alterar a regulação do crescimento celular e diferenciação. De fato, mutações somáticas no gene supressor do tumor von Hippel-Lindau (VHL) poderiam ser um alvo específico e suscetível do TCE.

Um dano tubular crônico pode ser um pré-requisito para câncer de células renais induzido por TCE. Metabólito(s) reativo(s)

via GSH podem ter um efeito genotóxico nos túbulos proximais dos rins humanos, mas o completo desenvolvimento de um tumor maligno requer efeitos promotores, tais como proliferação celular em resposta ao dano tubular.

Câncer pulmonar A inalação do TCE é carcinogênica no pulmão de camundongo, mas não no de rato. O TCE via oral não é carcinogênico no pulmão devido, provavelmente, ao metabolismo hepático que limita a quantidade de TCE que atinge o órgão. O alvo primário do TCE dentro do pulmão de camundongo é a célula de Clara não ciliada. A citotoxicidade nessas células é caracterizada por vacuolização e aumento na replicação celular no epitélio bronquiolar. As células de Clara de camundongos metabolizam o TCE a metabólitos tóxicos. Nos pulmões desses animais, tais células são mais numerosas e têm uma maior concentração de enzimas metabolizadoras do que em pulmões de ratos.

Tetracloroetileno

O tetracloroetileno (percloroetileno, PERC) é comumente usado em lavagem a seco, acabamento de tecidos, como desengraxante, em lavagem de tapetes e estofamentos, tintas e removedores de manchas, como solvente e intermediário na síntese de produtos químicos. Altas exposições costumam ocorrer em meios ocupacionais por inalação. O PERC é o terceiro contaminante químico mais frequentemente encontrado em águas subterrâneas em locais de resíduos perigosos nos Estados Unidos.

A disposição sistêmica e o metabolismo do PERC e do TCE são bastante similares. Ambos produtos químicos são bem absorvidos pelos pulmões e pelo sistema digestório, distribuídos aos tecidos de acordo com seu conteúdo lipídico, parcialmente exalados não modificados e metabolizados pelos citocromos P450. O PERC é oxidado pelos citocromos hepáticos a um grau muito menor do que o TCE, embora o ácido tricloroacético seja o principal metabólito comum. A conjugação com a GSH é a melhor via metabólica, quantitativamente, para o TCE e o PERC.

O potencial do PERC de causar câncer em humanos é controverso. Vários estudos epidemiológicos a respeito da incidência de câncer e da mortalidade em grupo de pessoas ocupacionalmente expostas ao PERC são ambíguos e não suportam uma relação causa e efeito para o PERC ou o TCE e câncer. O tabagismo e o consumo de álcool são importantes fatores de confusão para o câncer esofágico. A incidência de câncer renal não parece ser elevada.

Cloreto de metileno

O cloreto de metileno (diclorometano, MC) apresenta amplo uso como solvente em processos industriais, no preparo de alimentos, de agentes desengordurantes, de propelentes de aerossol e na agricultura. A rota primária de exposição a esse solvente muito volátil é a inalação.

O MC tem limitado potencial de toxicidade sistêmica. A exposição inalatória elevada e repetida produz mudanças leves e reversíveis no fígado de roedores. Pessoas expostas a altos níveis de vapores podem manifestar dano renal. Monóxido de carbono formado a partir do MC liga-se à hemoglobina produzindo aumento dose-dependente de carboxihemoglobina. Disfunção neurológica residual em trabalhadores expostos a MC tem sido relatada. Exposições ocupacionais e ambientais ao MC são motivos de preocupação principalmente devido à carcinogenicidade em roedores e ao seu potencial como um carcinógeno humano. Estudos epidemiológicos de funcionários expostos ao MC têm revelado que os riscos de câncer decorrentes da exposição ao agente, se houver, são muito pequenos.

Tetracloreto de carbono

O tetracloreto de carbono (CCl_4) é um hepatógeno clássico, mas a lesão renal é, frequentemente, mais severa em humanos. Não parece ser um bom modelo animal para toxicidade renal.

Os primeiros sinais de lesão hepatocelular em ratos incluem dissociação dos polissomos e ribossomos do retículo endoplásmatico rugoso, desordem de retículo endoplasmático liso, inibição da síntese de proteínas e acúmulo de triglicerídeos. O CCl_4 sofre ativação metabólica, produzindo peroxidação lipídica, ligação covalente e inibição da atividade da ATPase microssomal. A necrose de célula única é evidente de 5 a 6 horas após a exposição, a qual progride para necrose centrolobular em, no máximo, 24 a 48 horas. A regeneração celular é máxima de 36 a 48 h após a dose. A taxa e a extensão do reparo dos tecidos são importantes determinantes no resultado final da lesão hepática.

A perturbação da homeostase intracelular do cálcio (Ca^{2+}) parece ser parte da citotoxicidade do CCl_4. Um aumento dos níveis citosólicos de Ca^{2+} pode resultar de um influxo de Ca^{2+} extracelular devido ao dano à membrana plasmática e à diminuição do sequestro de Ca^{2+} intracelular. Uma elevação do Ca^{2+} intracelular em hepatócitos pode ativar a fosfolipase A_2 e agravar o dano à membrana. O Ca^{2+} aumentado pode estar envolvido em alterações das atividades de calmodulina e fosforilase, bem como em alterações na atividade da proteína quinase C nuclear. Altos níveis de Ca^{2+} ativam diversas enzimas catabólicas, incluindo proteases, endonucleases e fosfolipases, as quais matam as células via apoptose ou necrose. O Ca^{2+} elevado pode estimular a liberação de citocinas e eicosanoides das células de Kupffer, induzindo infiltração de neutrófilos e dano hepatocelular. A hepatotoxicidade do CCl_4 é, obviamente, um processo complexo e multifatorial.

Clorofórmio

O clorofórmio ($CHCl_3$, triclorometano) é usado principalmente na produção do clorodifluormetano (Freon 22), um gás refrigerante. Concentrações mensuráveis de $CHCl_3$ são encontradas em abastecimentos de água potável municipais. O $CHCl_3$ é hepatotóxico e nefrotóxico. Pode causar sintomas no sistema nervoso central em concentrações subanestésicas semelhantes às envolvidas em intoxicações por álcool. Exposições extremamente altas ao $CHCl_3$ podem sensibilizar o miocárdio às catecolaminas.

O metabólito fosgênio estabelece uma ligação covalente com as proteínas e com os lipídeos hepáticos e renais, o que danifica membranas e outras estruturas intracelulares, provocando necrose e subsequente proliferação celular reparadora que promove formação de tumor em roedores por fixação irreversível e espontânea ao DNA alterado, expandindo por clonagem as células iniciadas. A expressão de certos genes, incluindo *myc* e *fos*, é alterada durante a proliferação regenerativa de células em resposta à citotoxicidade induzida pelo $CHCl_3$.

Embora seja carcinogênica para roedores, a ingestão de $CHCl_3$, em pequenas quantidades, similar àqueles padrões encontrados em água potável para seres humanos, não consegue produzir metabólitos citotóxicos suficientes por unidade de tem-

po que superem os mecanismos de detoxificação. Atualmente, o $CHCl_3$ é classificado como um provável carcinógeno humano (grupo B2).

HIDROCARBONETOS AROMÁTICOS

Benzeno

Fundamentalmente, o benzeno é derivado do petróleo e é usado na síntese de outros produtos químicos e como agente antidetonante na gasolina livre de chumbo. A inalação é a principal via de exposição em ambientes industriais e no dia a dia. O tabagismo é a principal fonte de benzeno em ambientes residenciais. Fumantes têm taxas corpóreas de benzeno 6 a 10 vezes maiores do que não fumantes. O fumo passivo pode ser uma fonte significativa de exposição para não fumantes. Emissões de vapor de gasolina e de escapamento de automóveis são outros fatores que contribuem para a exposição da população em geral.

A toxicidade hematopoiética da exposição crônica ao benzeno pode manifestar-se inicialmente como anemia, leucopenia, trombocitopenia ou como uma combinação destes. A depressão da medula óssea parece ser dose-dependente em animais de laboratório e humanos. A exposição continuada pode resultar em aplasia medular e pancitopenia, um resultado, muitas vezes, fatal. Sobreviventes da anemia aplásica frequentemente exibem um estado pré-neoplásico, denominado *mielodisplasia*, que pode progredir para leucemia mieloide.

Existe uma forte evidência de estudos epidemiológicos de que altos níveis de exposição ao benzeno resultam em aumento do risco de leucemia mieloide aguda (LMA) em humanos. Evidências de aumento de risco de outros tipos de câncer são menos convincentes.

Vários mecanismos potenciais requerem ações complementares de benzeno e diversos de seus metabólitos para toxicidade. (1) Um número de metabólitos do benzeno liga-se covalentemente a GSH, proteínas, DNA e RNA. Isso pode resultar em rompimento do microambiente hematopoiético funcional pela inibição de enzimas, destruição de determinadas populações de células e alteração do crescimento de outros tipos de células. Uma ligação covalente de hidroquinonas com as proteínas da fibra do fuso inibirá a replicação celular. (2) O estresse oxidativo contribui para a toxicidade do benzeno. Como a medula óssea é rica em atividade da peroxidase, metabólitos fenólicos do benzeno podem ser ativados a derivados de quinona reativos, que podem provocar dano de DNA, levando a mutação celular ou apoptose. A modulação da apoptose pode levar a hematopoiese anômala e progressão neoplásica.

Tolueno

O tolueno está presente em tintas, lacas, diluentes, agentes de limpeza, colas e em muitos outros produtos. Também é utilizado na produção de outros produtos químicos. A gasolina, que contém de 5 a 7% de tolueno (g/g), é a maior fonte de emissão atmosférica e de exposição à população em geral. A inalação é a principal via de exposição, embora o contato com a pele ocorra frequentemente. O tolueno é um dos solventes favoritos de dependentes químicos, os quais inalam, de forma intencional, altas concentrações de COVs.

O tolueno é bem absorvido pelos pulmões e pelo sistema digestório. Acumula-se rapidamente no cérebro e, em seguida, é depositado em outros tecidos de acordo com seus conteúdos lipídicos, com o tecido adiposo armazenando maiores níveis. O tolueno é bem metabolizado, mas uma porção é exalada inalterada.

O SNC é o principal órgão-alvo do tolueno e de outros alquilbenzenos. Manifestações decorrentes da exposição variam de ligeira tontura e cefaleia a inconsciência, depressão respiratória e morte. Diretrizes de exposição ocupacional por inalação são estabelecidas para prevenir declínios significativos em funções psicomotoras. Efeitos encefalopáticos agudos são rapidamente reversíveis após cessação da exposição. Efeitos neurológicos sutis têm sido reportados em alguns grupos de indivíduos ocupacionalmente expostos. Neurotoxicidade severa é, algumas vezes, diagnosticada em pessoas que fizeram uso abusivo de tolueno por um período prolongado. Os sinais clínicos incluem atividade eletroencefalográfica (EEG) anormal, tremores, nistagmo e atrofia cerebral, bem como comprometimento auditivo, visual e da fala. Imagens de ressonância magnética nuclear (RMN) têm revelado alterações permanentes na estrutura cerebral, que correspondem ao grau de disfunção cerebral. Essas alterações incluem hipertrofia ventricular, atrofia cerebral e aumento da substância branca, um perfil característico denominado *leucoencefalopatia do tolueno.*

Xilenos e etilbenzeno

Várias pessoas estão expostas ocupacional e ambientalmente a xilenos e etilbenzeno. Xilenos e etilbenzeno, bem como benzeno e tolueno, são os principais componentes da gasolina e de outros combustíveis. Os principais usos industriais dos xilenos são como solventes e intermediários sintéticos. A maioria dos aromáticos liberados no ambiente evapora na atmosfera.

De modo semelhante ao tolueno, xilenos e outros solventes aromáticos são bem absorvidos pelos pulmões e pelo sistema digestório, distribuídos para os tecidos de acordo com o fluxo sanguíneo e conteúdo lipídico, em parte exalados, amplamente metabolizados pelos citocromos hepáticos P450 e largamente excretados como metabólitos urinários. A letalidade aguda dos hidrocarbonetos (p. ex., depressão do SNC) varia diretamente com sua lipofilicidade. Existe evidência limitada de que a exposição ocupacional crônica aos xilenos está associada com efeitos neurológicos residuais.

Xilenos e etilbenzeno têm capacidade limitada de afetar de modo adverso outros órgãos além do SNC. Hepatotoxicidade e/ou nefrotoxicidade leve, transitória, tem sido ocasionalmente reportada em humanos expostos a altas concentrações de vapor de xilenos. A maioria dos alquilbenzenos não parece ser genotóxica ou carcinogênica. O etilbenzeno e o estireno são conhecidos como cancerígenos em animais, mas apresentam dados limitados em seres humanos.

ÁLCOOIS

Etanol

Muitos seres humanos experimentaram maior exposição ao etanol (álcool etílico e álcool) do que a qualquer outro solvente. O álcool etílico é utilizado como aditivo na gasolina, como

solvente na indústria, em vários produtos domésticos e farmacêuticos e está envolvido, com frequência, em intoxicações com bebidas. Efeitos tóxicos são menos importantes ocupacionalmente do que lesões resultantes do prejuízo psicomotor. Dirigir sob a influência de álcool é a principal causa de acidentes fatais com automóveis. Níveis sanguíneos de álcool e o tempo necessário para alcançá-los são amplamente controlados pela rapidez e extensão do consumo da substância. O etanol é distribuído na água corporal e em algum grau no tecido adiposo. O álcool é eliminado por excreção urinária, no ar exalado e pelo metabolismo. Os níveis sanguíneos em um adulto médio decrescem ~ 15-20 mg/dL por hora. Assim, uma pessoa com um nível sanguíneo de álcool de 120 mg/dL precisaria de 6 a 8 horas para alcançar níveis insignificantes.

O etanol é metabolizado a acetaldeído por três enzimas: (1) a álcool desidrogenase (ADH) catalisa a oxidação da maioria do etanol a acetaldeído, que é rapidamente oxidado pela acetaldeído desidrogenase (ALDH) a acetato; (2) a catalase utilizando H_2O_2 fornecido pelas ações da NADPH oxidase e xantina oxidase será normalmente responsável por mais de 10% do metabolismo do etanol; (3) a CYP2E1 do sistema microssomal hepático de oxidação do etanol (MEOS) metabolizará apenas um pequeno percentual.

A atividade ALDH costuma ser elevada o suficiente para metabolizar grandes quantidades de acetaldeído a acetato. Brancos, negros e asiáticos têm porcentagens variadas de diferentes isoenzimas de ALDH, que diminui a eficiência do metabolismo do acetaldeído. Aproximadamente 50% dos asiáticos têm ALDH inativa, e essas pessoas podem apresentar rubor, cefaleia, náusea, vômitos, taquicardia e hiperventilação na ingestão de etanol. Enquanto essa síndrome oferece proteção contra o desenvolvimento do alcoolismo, ela aumenta o risco de câncer de esôfago, estômago, colo, pulmão, cabeça e pescoço, relacionado ao acetaldeído.

Diferenças entre gênero na resposta ao etanol são bem reconhecidas. Mulheres exibem níveis sanguíneos de etanol ligeiramente mais elevados do que homens após a ingestão de doses equivalentes. Esse fenômeno é, em parte, devido ao mais extenso metabolismo do etanol catalisado via ADH pela mucosa gástrica dos homens e ao menor volume de distribuição em mulheres para solventes relativamente polares, como álcoois. Além disso, mulheres são mais suscetíveis a hepatite e cirrose induzidas por álcool.

A síndrome alcoólica fetal (SAF) é a causa mais comum de retardo mental evitável. Critérios diagnósticos para SAF incluem: (1) elevado consumo de álcool durante a gestação; (2) retardo de crescimento pré e pós-natal; (3) malformações craniofaciais, incluindo microcefalia; e (4) retardo mental. Manifestações menos completas da exposição ao etanol na gestação são referidas como efeitos fetais do álcool ou desordem no neurodesenvolvimento relacionadas ao álcool. O consumo excessivo da substância durante os 3 trimestres de gravidez pode resultar em manifestações particulares dependendo do período de gestação durante o qual ocorre o consumo.

A CYP2E1 humana é efetiva na produção dos intermediários reativos de oxigênio a partir do etanol que causam peroxidação lipídica. Além disso, o etanol induz a liberação de endotoxinas de bactérias Gram-negativas no intestino. A endotoxina é retomada pelas células de Kupffer, provocando a liberação de mediadores inflamatórios que são citotóxicos aos hepatócitos.

O dano tecidual induzido pelo álcool resulta dos distúrbios nutricionais e dos efeitos tóxicos diretos. Má absorção de tiamina, diminuída circulação êntero-hepática de folato, degradação do fosfato de piridoxal e distúrbios no metabolismo das vitaminas A e D podem ocorrer. A liberação de prostaglandinas das células de Kupffer endotoxinas-ativadas pode ser responsável por um estado hipermetabólico do fígado. Com o aumento da demanda de oxigênio, a viabilidade dos hepatócitos centrilobulares estaria mais comprometida devido ao seu suprimento relativamente pobre de oxigênio. O metabolismo do etanol via ADH e ALDH resulta em uma mudança no estado redox da célula. As resultantes hiperlacticacidemia, hiperlipidemia, hiperuricemia e hiperglicemia provocam esteatose aumentada e síntese de colágeno.

O alcoolismo pode resultar em danos nos tecidos extra-hepáticos. A cardiomiopatia alcoólica é um processo complexo que pode resultar da diminuição da síntese de proteínas cardíacas contráteis, do ataque de radicais de oxigênio, do aumento Ca^{2+}-ATPase no retículo endoplasmático e da resposta imunológica a aductos de proteína-acetaldeído. O consumo elevado parece depletar antioxidantes e aumentar o risco de acidentes vasculares encefálicos isquêmicos e hemorrágicos. O cérebro e o pâncreas podem ser afetados adversamente em alcoolistas.

As associações entre álcool e câncer vêm principalmente de estudos epidemiológicos, caso-controle e coorte. Etanol e tabagismo agem sinergicamente para causar câncer oral, de faringe e laringe. Acredita-se, em geral, que o álcool induz câncer de fígado provocando cirrose ou outros danos ao órgão e/ou aumentando a bioativação dos carcinógenos.

O consumo crônico de etanol pode promover carcinogênese por: (1) produção de acetaldeído, um fraco mutagênico e carcinogênico; (2) indução de CYP2E1 com conversão de pró-carcinógenos em carcinógenos; (3) depleção de SAM e, consequentemente, hipometilação global de DNA; (4) produção aumentada de proteínas reguladoras de nucleotídeos guanina de regulação e componentes da proteína quinase extracelular Kinase sinal-reguladora ativada por mitógeno de sinalização; (5) acúmulo de ferro e estresse oxidativo associado; (6) inativação do gene supressor de tumor *BRCA1* e capacidade de resposta de estrogênio aumentada (principalmente de mama); e (7) diminuição no metabolismo do ácido retinoico.

Metanol

O metanol (álcool metílico e álcool de madeira) é encontrado em uma série de produtos de consumo, incluindo fluidos de máquina de lavar para-brisas, e é usado na fabricação de formaldeído e éter metil terc-butílico. Pode produzir irritação sensorial reversível e narcose em concentrações abaixo daquelas que produzem patologia sistêmica de órgãos. A grave toxicidade do metanol está mais associada com a ingestão. A intoxicação aguda por metanol em humanos é caracterizada por um período assintomático de 12 a 24 horas seguido de acidemia fórmica, toxicidade ocular, coma e, em casos extremos, morte. Distúrbios visuais desenvolvem-se entre 18 e 48 horas após a ingestão e incluem desde fotofobia suave e visão turva a acentuada redução da acuidade visual e completa cegueira.

O alvo do metanol no interior do olho é a retina, especificamente o disco óptico e o nervo óptico. As células de Müller e

as células haste (bastão) e cone são alteradas funcional e estruturalmente, uma vez que a atividade do citocromo coxidase na mitocôndria é inibida, resultando na redução de ATP.

Embora metabolizado no fígado, a conversão intrarretinal do metanol a formaldeído e formiato é crítica. Em seguida, o metabolismo do formiato a CO_2 ocorre por meio de duas etapas via tetrahidrofolato (THF) dependente. A suscetibilidade à toxicidade do metanol é dependente da taxa relativa de depuração do formiato. A conversão do formiato a CO_2 é mais lenta em primatas do que em roedores. De fato, o formiato age como um toxicante ocular direto, e o estado acídico potencializa a toxicidade do agente, pois a inibição do citocromo oxidase aumenta com a diminuição do pH.

GLICÓIS

Etilenoglicol

O etilenoglicol (EG) é o principal constituinte de anticongelantes, descongeladores, fluidos hidráulicos, agentes de secagem e tintas, e é usado na fabricação de plásticos e fibras de poliéster. As vias de exposição mais importantes são a dérmica e a ingestão acidental ou intencional. O EG é rapidamente degradado no meio ambiente.

Com toxicidade aguda alta para humanos, acredita-se que o EG cause mais de 100 mortes por ano nos Estados Unidos. Três estágios clínicos de intoxicação aguda implicam: (1) período de embriaguez cuja duração e grau dependem da dose; (2) etapa cardiopulmonar, de 12 a 24 horas após a exposição, caracterizada por taquicardia e taquipneia, que podem progredir para insuficiência cardíaca e edema pulmonar; e (3) etapa de toxicidade renal, 24 a 72 horas após a exposição. A acidose metabólica pode progredir em termos de gravidade durante os estágios 2 e 3.

A absorção pelo sistema digestório de roedores é muito rápida e praticamente completa. A absorção dérmica em humanos parece ser menos extensa. O EG é distribuído por todo o fluido extracelular corporal. Como ilustrado na Figura 24.2, o EG é metabolizado pela ADH NAD^+ dependente a glicoaldeído e ácido glicólico. Este último é oxidado a ácido glioxílico pela ácido glicólico oxidase e desidrogenase lática. O ácido glioxílico pode ser convertido em formiato e CO_2 ou oxidado pela ácido glioxílico oxidase a ácido oxálico. A acidose metabólica em humanos parece ser devida ao acúmulo de ácido glicólico. Pode ocorrer hipocalcemia, como resultado da quelação do cálcio pelo ácido oxálico para formar cristais de oxalato de cálcio. A deposição desses cristais nos túbulos renais e em pequenos vasos sanguíneos no cérebro está associada com danos nesses órgãos. Além disso, cristais de ácido hipúrico e citotoxicidade direta por outros metabólitos podem atuar como agentes nocivos ao rim na

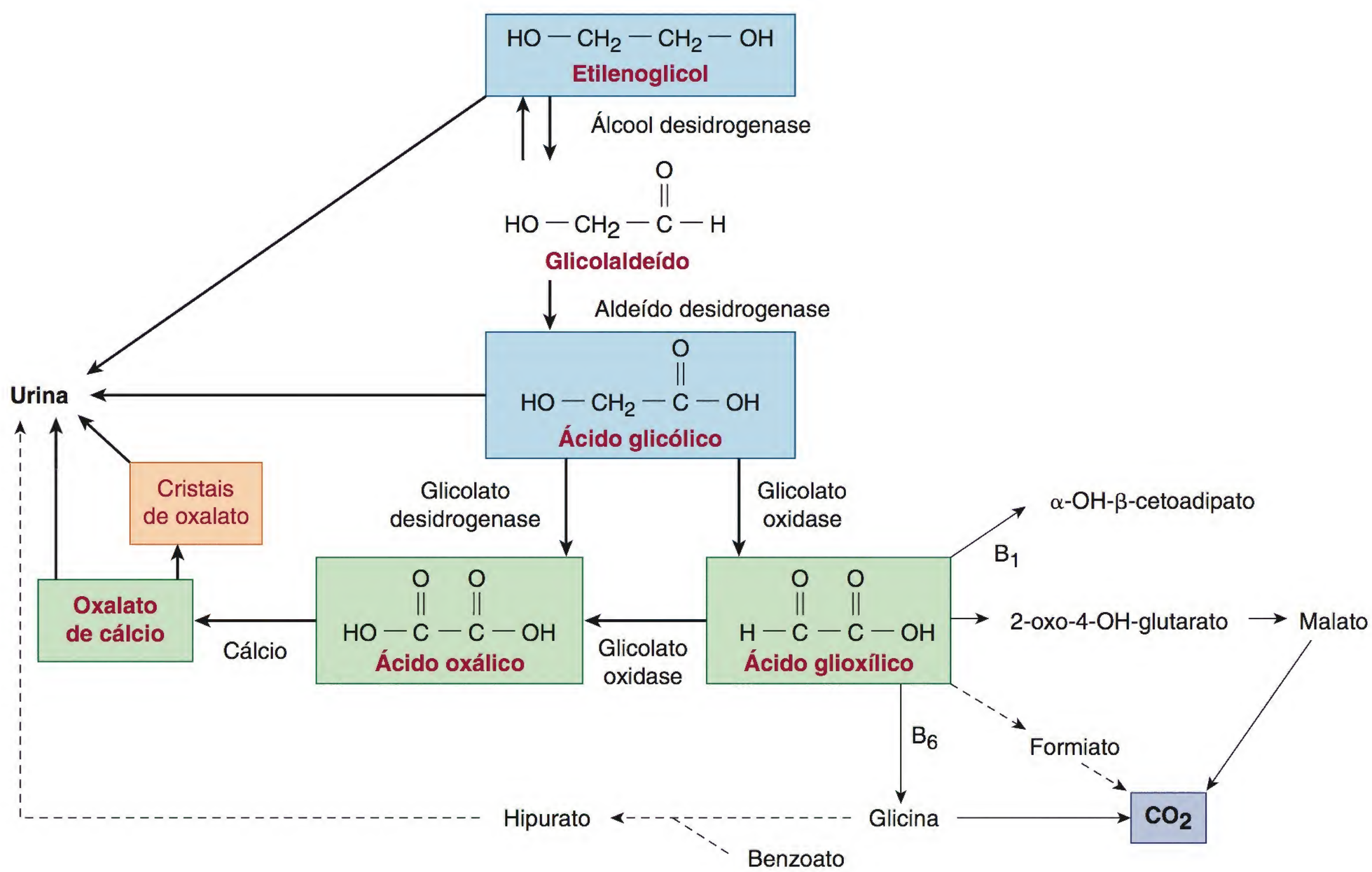


FIGURA 24.2 Esquema metabólico para o etilenoglicol em animais. Metabólitos-chave que têm sido observados *in vivo* estão destacados nas caixas. As linhas tracejadas são vias teóricas que não têm sido verificadas *in vivo* ou *in vitro*. (Utilizada com permissão de Corley RA, Bartels MJ, Carney EW, et al: Development of a physiologically based pharmacokinetic model for ethylene glycol and its metabolite, glycolic acid, in rats and humans. *Toxicol Sci* 85:476-490, 2005.)

exposição ao EG. O etilenoglicol parece ter limitado potencial de toxicidade crônica, não apresenta evidência de carcinogenicidade e não parece ser tóxico ao sistema reprodutivo.

Propilenoglicol

O propilenoglicol (PG) é utilizado como um intermediário na síntese de fibras de poliéster e resinas, como um componente de anticongelante automotivo/refrigerantes e como fluido de degelo de aeronaves. Como o PG é "geralmente reconhecido como seguro" pela Food and Drug Administration (FDA), é um constituinte de vários cosméticos e alimentos processados. Além disso, serve como um solvente/diluente para um número substancial de preparações de medicamentos para uso por via oral, cutânea e intravenosa. As vias mais importantes de exposição são a ingestão e o contato dérmico. O PG é prontamente metabolizado pela ADH a lactaldeído, que é, então, oxidado pela aldeído desidrogenase a lactato. O excesso de lactato é responsável principalmente pela acidose. O PG apresenta baixa ordem de toxicidade aguda e crônica.

GLICOL ÉTERES

Os glicol éteres incluem EG monometil éter, também chamado de 2-metoxietanol (2-ME; $\mathbf{CH_3}$–$\mathbf{O}$–CH_2–CH_2–OH), EG dimetil éter ($\mathbf{CH_3}$–$\mathbf{O}$–CH_2–CH_2–O–CH_3), 2-butoxietanol (2-BE; $\mathbf{CH_3}$–$\mathbf{CH_2}$–$\mathbf{CH_2}$–$\mathbf{CH_2}$–$\mathbf{O}$–CH_2–CH_2–OH) e 2-ME acetato ($\mathbf{CH_3}$–$\mathbf{CO}$–$\mathbf{O}$–CH_2–CH_2–O–CH_3). Esses solventes sofrem rápida hidrólise da porção éster *in vivo* e exibem o mesmo perfil de toxicidade como glicóis não esterificados. Os glicol éteres são metabolizados a ácidos alcóxi-acéticos, que são considerados os toxicantes finais. Seus precursores acetaldeído também têm sido implicados.

Como o metabolismo do glicol éter, sua toxicidade varia com a estrutura química. Com o aumento do comprimento de cadeia alquil, diminuem a toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento, enquanto aumenta a hematotoxicidade.

Toxicidade reprodutiva

Estudos epidemiológicos têm reportado associações entre exposição a glicol éter e aumento do risco para abortos espontâneos, distúrbios menstruais e baixa fertilidade entre mulheres empregadas na indústria de semicondutores. Tem sido descrita espermatotoxicidade reversível em homens para aqueles expostos a glicol éteres. Respostas típicas incluem atrofia testicular e dos túbulos seminíferos, morfologia anormal da cabeça do espermatozoide, espermatócitos necróticos, contagem e motilidade do espermatozoide diminuídas e infertilidade.

Toxicidade de desenvolvimento

A toxicidade de desenvolvimento em roedores inclui variações menores do esqueleto, hidrocefalia, exencefalia, malformações cardiovasculares, dilatação da pelve renal, malformações craniofaciais e dos dedos. Existem associações significativas entre exposição ao éter glicol e lábio leporino e defeitos no tubo neural, como espinha bífida.

Hematotoxicidade

Alguns glicol éteres são hemolíticos. Em geral, o balanço osmótico das hemácias é interrompido, elas absorvem água e incham, sua concentração de ATP diminui, e ocorre hemólise. Humanos são menos suscetíveis do que roedores a deformidades em eritrócitos e a hemólise induzida por glicol éter.

GASOLINA E ADITIVOS AUTOMOTIVOS

A gasolina é uma mistura de centenas de hidrocarbonetos predominantemente na faixa de C_4 a C_{12}. Sua composição varia com o petróleo bruto do qual é refinada, com o processo de refino e com o uso de aditivos específicos, e por isso generalizações em relação à toxicidade da gasolina devem ser feitas de maneira cuidadosa. Experimentos conduzidos com gasolina completamente vaporizada não podem ser um preditivo de risco real, pois humanos estão expostos principalmente a compostos mais voláteis na faixa de C_4 a C_5, que são, em geral, menos tóxicos do que frações com peso molecular maior.

As exposições mais extremas ocorrem àqueles que aspiram gasolina intencionalmente por seus efeitos eufóricos. Esse hábito perigoso pode causar encefalopatias aguda e crônica que são expressas como prejuízos cognitivo e motor. A ingestão de gasolina durante a realização de sifonamento é, em geral, seguida por uma sensação de queimação na boca e na faringe, bem como náusea, vômitos e diarreia, resultantes de irritação gastrintestinal. A gasolina aspirada pelos pulmões pode produzir dano epitelial pulmonar, edema e pneumonite.

A gasolina oxigenada contém aditivos que aumentam a qualidade de octano e a combustão e reduzem emissões de escape. O benzeno e o 1,3-butadieno são classificados como conhecidos ou prováveis carcinógenos humanos. A coexposição a etanol e gasolina mostra efeitos tóxicos aditivos e possivelmente sinérgicos no crescimento, neuroquímicos, e histopatologia da glândula adrenal e do trato respiratório. Não existe nenhuma associação epidemiológica significativa entre exposição a metil tercio-butil éter (MTBE) e sintomas agudos comumente a ele atribuídos, incluindo cefaleia, irritação de olhos, nariz e garganta, tosse, náuseas, tontura e desorientação. Como três bioensaios de MTBE para câncer em animais indicam tumores renais e testiculares em ratos machos e adenoma de fígado, leucemia e linfoma em ratos fêmeas, o MTBE é classificado como um possível carcinógeno humano (grupo C).

REFERÊNCIAS

Karch SB: *Karch's Pathology of Drug Abuse*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2002.

Patnaik P: *A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances*, 3rd ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons 2007.

Philip RB: *Ecosystems and Human Health: Toxicology and Environmental Hazards*, 2nd ed. Boca Raton, FL: Lewis, 2001.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes sentenças sobre solventes é FALSA?
   a. Solventes podem ser absorvidos pelo sistema digestório e através da pele.
   b. O equilíbrio de solventes absorvidos/vapores ocorre mais rapidamente nos pulmões.
   c. Solventes são pequenas moléculas que não possuem carga.
   d. A volatilidade dos solventes aumenta com o peso molecular.
   e. Muitos dos solventes são refinados do petróleo.

2. Qual é a rota pela qual a maioria dos solventes ingressa no ambiente?
   a. Derramamentos de produtos químicos
   b. Contaminação de água potável
   c. Evaporação
   d. Descarte inadequado de resíduos
   e. Vento

3. Todas as seguintes sentenças são verdadeiras, EXCETO:
   a. A maioria dos solventes pode passar livremente pelas membranas por difusão.
   b. A lipofilicidade do solvente é importante na determinação de sua taxa de absorção dérmica.
   c. Solventes hidrofílicos têm relativamente baixo coeficiente de partição sangue:ar.
   d. A biotransformação de um solvente lipofílico pode resultar na produção de um composto mutagênico.
   e. O metabolismo hepático de primeira passagem determina a quantidade de solvente absorvido no sistema digestório.

4. Qual das seguintes sentenças referentes à influência da idade sobre a toxicidade dos solventes é VERDADEIRA?
   a. A absorção digestiva é maior em adultos do que em crianças.
   b. Solventes polares atingem maiores níveis sanguíneos em idosos do que em crianças.
   c. Crianças são sempre mais suscetíveis à toxicidade dos solventes do que adultos.
   d. O aumento da ventilação alveolar aumenta a absorção em maior extensão de solventes lipossolúveis do que de solventes hidrossolúveis.
   e. O aumento da porcentagem da gordura corporal aumenta a depuração de solventes químicos.

5. A inalação de gasolina pode resultar em qual dos seguintes graves problemas de saúde?
   a. Insuficiência renal
   b. Pneumotórax
   c. Doença de Hodgkin
   d. Encefalopatia
   e. Trombocitopenia

6. Qual das seguintes sentenças sobre o benzeno é FALSA?
   a. Exposições a altos níveis de benzeno podem resultar em leucemia mieloide aguda (LMA).
   b. Emissões de vapor de gasolina e de escapamento de automóveis são dois dos principais contribuintes para a inalação do benzeno.
   c. O benzeno é utilizado como um ingrediente da gasolina sem chumbo.
   d. Metabólitos do benzeno ligam-se covalentemente ao DNA, ao RNA e a proteínas e interferem no seu funcionamento normal no interior da célula.
   e. Espécies reativas de oxigênio podem ser derivadas do benzeno.

7. Qual das seguintes alternativas NÃO é critério para diagnóstico da síndrome alcoólica fetal?
   a. Consumo materno de álcool durante a gestação
   b. Retardo do crescimento pré e pós-natal
   c. Microcefalia
   d. Toxicidade ocular
   e. Retardo mental

8. Qual das seguintes alternativas NÃO é uma enzima importante no metabolismo do etanol?
   a. Álcool desidrogenase
   b. Formaldeído desidrogenase
   c. CYP2E1
   d. Catalase
   e. Acetaldeído desidrogenase

9. Qual das seguintes alternativas NÃO é associada com a toxicidade do éter de glicol?
   a. Espermatotoxicidade irreversível
   b. Malformações craniofaciais
   c. Hematotoxicidade
   d. Atrofia de túbulos seminíferos
   e. Lábio leporino

10. Qual das seguintes sentenças sobre hidrocarbonetos clorados é FALSA?
    a. A toxicidade do tricloroetileno (TCE) é mediada principalmente pelos metabólitos reativos, não pelo composto principal.
    b. A conjugação com glutationa é uma importante etapa metabólica de tricloroetileno (TCE) e percloroetileno (PERC).
    c. Muitos hidrocarbonetos clorados são utilizados como agentes desengordurantes.
    d. O clorofórmio interfere com a homeostase intracelular de cálcio.
    e. O tetracloreto de carbono causa toxicidade hepatocelular e renal.

CAPÍTULO

25

Efeitos Tóxicos da Radiação e de Materiais Radioativos

Naomi H. Harley

CONCEITOS BÁSICOS DE RADIAÇÃO
- Partículas alfa
- Partículas beta, pósitrons e captura de elétrons
- Emissão de raio gama (fóton)
- Conversão interna

INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA
- Partículas alfa
- Partículas beta
- Raios gama
  - O efeito fotoelétrico
  - O efeito compton
  - Produção de par
- Perda de energia de raio gama

MECANISMOS DE DANO EM DNA E MUTAGÊNESE
- Deposição de energia no núcleo celular
- Ionização direta e indireta
- Danos ao DNA

ESTUDOS HUMANOS DA TOXICIDADE DA RADIAÇÃO

EPIDEMIOLOGIA AMBIENTAL E DOMÉSTICA
- Estudos ambientais
- Metanálise da epidemiologia ambiental
- Os estudos domésticos
- Metanálise da epidemiologia doméstica
- O que é conhecido sobre exposição ao radônio

RADIOATIVIDADE NATURAL E RADIAÇÃO DE BACKGROUND
- Liberação ambiental local

PONTOS-CHAVE

- Os quatro principais tipos de radiação são devidos a partículas alfa, elétrons (partículas beta carregadas negativamente ou pósitrons carregados positivamente), raios gama e raios X.
- Partículas alfa são núcleos de hélio (consistindo em dois prótons e dois nêutrons) com a carga de +2 que são ejetadas do núcleo de um átomo.
- O decaimento de partículas beta ocorre quando um nêutron no núcleo de um elemento é efetivamente transformado em um próton e um elétron, que é ejetado.
- A emissão de raios gama ocorre em combinação com alfa, beta ou emissão de pósitron ou captura de elétrons. Quando a partícula ejetada não utiliza toda a energia disponível para decaimento, o excesso de energia é liberado pelo núcleo como fóton ou emissão de raio gama coincidente com a ejeção da partícula.
- A radiação ionizante perde energia quando passa através de um material produzindo um par de íons (um elétron e um resíduo atômico carregado positivamente).
- A radiação pode depositar energia diretamente no DNA (efeito direto) ou pode ionizar outras moléculas intimamente associadas com DNA, hidrogênio ou oxigênio para formar radicais livres que podem danificar o DNA (efeito indireto).

CONCEITOS BÁSICOS DE RADIAÇÃO

Os quatro principais tipos de radiação são devidos a partículas alfa, elétrons (partículas beta carregadas negativamente ou pósitrons carregados positivamente), raios gama e raios X. Um átomo pode decair para um elemento produto pela perda de uma partícula alfa (He^{2+}) pesada (massa = 4) e carregada (+2), que consiste em dois prótons e dois nêutrons. A partícula alfa é ejetada do núcleo com energia dependendo do elemento. Após perder sua energia, é um átomo de hélio estável. Um átomo pode decair pela perda de um elétron carregado negativa ou positivamente (e^-, uma partícula beta, ou e^+, um pósitron). A radiação gama ocorre quando o núcleo libera excesso de energia, em geral após uma transição alfa, beta ou de pósitron. O raio X ocorre quando um elétron da camada mais interna é removido e o rearranjo de elétrons atômicos ocorre, com a liberação da energia de raio X característica do elemento.

Partículas alfa

Partículas alfa são núcleos de hélio (consistindo de dois prótons e dois nêutrons) com uma carga de +2 que são ejetadas do núcleo de um átomo. Quando uma partícula alfa perde energia, diminui para a velocidade de um átomo gasoso e adquire dois elétrons provenientes do vasto mar de elétrons livres na maioria dos meios e torna-se parte do *background* normal de hélio no ambiente. A fórmula para o decaimento alfa é:

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}^{A-4}_{Z-2}Y + He^{2+} + \text{gama} + Q_{\alpha}$$

em que Z é o número atômico e A, o peso atômico.

A energia disponível nesse decaimento é Q_{α} e é igual à diferença de massa do precursor e os dois produtos. A energia é compartilhada entre as partículas e o raio gama, se estiver presente.

Um exemplo de decaimento alfa é dado pelo radionuclídeo natural rádio (^{226}Ra):

$$^{226}_{86}Ra \rightarrow {}^{222}_{84}Rn + \text{alfa } (5{,}2\ MeV)$$

A energia das partículas alfa para a maioria dos emissores fica na faixa de 4 a 8 MeV. Partículas alfa mais energéticas existem, mas são vistas somente em emissores de vidas muito curtas, como aqueles formados pelas reações que ocorrem em aceleradores de partícula.

Partículas beta, pósitrons e captura de elétrons

O decaimento de partículas beta ocorre quando um nêutron do núcleo de um elemento é efetivamente transformado em um próton e um elétron. A subsequente ejeção do elétron ocorre, e a máxima energia da partícula beta equaliza a diferença de massa entre o núcleo precursor e o produto. Um raio gama também pode estar presente para compartilhar a energia, Q_{β}:

$$^{A}_{Z}X \rightarrow {}_{Z+1}^{A}Y + \text{beta} + Q_{\beta}$$

Um exemplo de decaimento beta é dado pelo radionuclídeo natural de chumbo (^{210}Pb):

$$^{210}_{82}Pb \rightarrow {}^{210}_{83}Bi + \text{beta } (0{,}015\ \text{MeV}) + \text{gama } (0{,}046\ \text{MeV})$$

Ao contrário das partículas alfa monoenergéticas no decaimento alfa, as partículas beta são emitidas com um contínuo espectro de energia, indo do zero à máxima energia disponível para transição. A razão para isso é que a energia total disponível é compartilhada em cada decaimento ou transição por duas partículas: a partícula beta e um antineutrino. A energia total liberada em cada transição é constante, mas as partículas beta observadas aparecem, então, como espectro. A energia residual é arrebatada pelo antineutrino, que é a partícula com massa essencialmente nula e carga que não pode ser observada sem o auxílio de instrumentação extraordinariamente complexa. A partícula beta, em contraste, é prontamente observada com equipamento convencional de contagem nuclear.

A emissão de pósitrons é similar à emissão de partículas beta, entretanto, resulta de uma efetiva transformação nucleônica de um próton em um nêutron mais um elétron carregado positivamente. O número atômico diminui ao invés de aumentar, como ocorre no decaimento beta.

Um exemplo do decaimento de um pósitron é dado pelo radionuclídeo natural de cobre (^{64}Cu), que decai por emissão beta 41% do tempo, emissão de pósitrons 19% do tempo e captura de elétron 40% do tempo:

$$^{64}_{29}Cu \rightarrow {}^{64}_{28}Ni + \textit{pósitron } (0{,}66\ MeV)\text{: } 19\%$$

$$^{64}_{29}Cu \rightarrow {}^{64}_{30}Zn + \textit{beta } (0{,}57\ MeV)\text{: } 41\%$$

$$^{64}_{29}Cu \rightarrow {}^{64}_{28}Ni\ \textit{captura de elétrons}\text{: } 40\%$$

A energia de um pósitron aparece como espectro contínuo, similar ao decaimento beta, em que a energia total disponível para decaimento é compartilhada entre o pósitron e um neutrino. No caso da emissão de pósitron, a energia máxima de uma partícula emitida é a diferença de massa do precursor e o nuclídeo produto menos a energia necessária para criar duas massas de elétrons (1,02 MeV), em que a energia máxima da partícula beta é a própria diferença de massa. Isso acontece porque no decaimento beta, o aumento no número de elétrons orbitais resultante do aumento do número atômico do núcleo produto cancela a massa do elétron perdido emitindo a partícula beta. Isso não acontece no decaimento de pósitrons, e há um elétron orbital perdido como resultado da diminuição no número atômico do produto e a perda da massa eletrônica na emissão de pósitron.

A captura de elétron compete com o decaimento de pósitron, e o núcleo produto resultante é o mesmo nuclídeo. Na captura de elétron, um elétron orbital é adquirido pelo núcleo, e a transformação de um próton mais o elétron para formar um nêutron acontece. Em alguns casos, a energia disponível é liberada como um fóton raio gama, mas isso não é necessário, e um neutrino monoenergético pode ser emitido. Se o 1,02 MeV necessário para o decaimento do pósitron não estiver disponível, o decaimento de pósitron não é cineticamente possível, e a captura de elétron é o único modo observado.

Emissão de raio gama (fóton)

A emissão de raio gama não é um processo primário, exceto em raras circunstâncias, mas ele ocorre em combinação com emissão alfa, beta, de pósitrons ou captura de elétron. Quando a partícula ejetada não utilizar toda a energia disponível para decaimento, o excesso de energia é liberado pelo núcleo como fóton ou emissão de raio gama coincidente com a ejeção da partícula.

Um dos raros exemplos de emissão pura de raio gama é o tecnécio 99m (^{99m}Tc), que tem uma meia-vida de 6 horas e é amplamente utilizado na medicina diagnóstica para vários escaneamentos de órgãos. Seu produto de decaimento, ^{99}Tc, tem uma meia-vida muito mais longa ($2{,}13 \times 10^5$ anos), e como todo ^{99}Tc é liberado para o ambiente, um perfil do seu nuclídeo é emergente:

$$^{99m}_{43}Tc \rightarrow {}^{99}_{43}Tc + \text{gama } (0{,}14\ M \text{ e } V)$$

Conversão interna

Em muitos casos, o fóton não será realmente emitido pelo núcleo, mas o excesso de energia excitatória será transferido para um elétron orbital. Esse elétron é, então, ejetado como partícula monoenergética com energia igual àquela do fóton menos a energia de ligação do elétron orbital. Esse processo é conhecido como conversão interna.

INTERAÇÃO DA RADIAÇÃO COM A MATÉRIA

A energia ionizante, por definição, perde energia quando passa através da matéria, produzindo um par iônico (um elétron e um resíduo atômico carregado positivamente). Uma fração da perda de energia eleva os elétrons atômicos para um estado excitado. A energia média necessária para produzir um íon par, *W*, é numericamente igual a 33,85 eV no ar. Essa energia é cerca de duas vezes o potencial de ionização da maioria dos gases ou outros elementos, pois ela inclui a energia perdida no processo de excitação. Não está claro qual o papel da excitação, por exemplo, em danos aos alvos no DNA celular. A ionização, entretanto, pode quebrar ligações no DNA, podendo causar quebras nas duplas fitas.

Todas as partículas e raios interagem por meio de suas cargas ou campos com elétrons atômicos ou livres no meio através do qual eles passam. Não há interação com o núcleo atômico, exceto em energias acima de 8 MeV, que é necessária para interações que quebram a partir do núcleo (espalação). Muitas partículas de raios cósmicos de alta energia, por exemplo, produzem ^{3}H, ^{7}Be, ^{14}C e ^{22}Na na atmosfera superior por espalação do nitrogênio e oxigênio atmosféricos.

Partículas alfa

A partícula alfa é uma partícula pesada carregada com uma massa que é 7.300 vezes aquela dos elétrons com os quais interage. Uma partícula enorme interagindo com uma partícula pequena tem a interessante propriedade de dar velocidade máxima durante a transferência de energia para a partícula pequena de apenas duas vezes a velocidade inicial da partícula pesada. A energia máxima que pode ser transferida por interação é:

$$E_{(máxima)} = \frac{4}{7.300} E_{(partícula\ alfa)} \qquad (1)$$

Apesar de as partículas alfa poderem perder talvez de 10 a 20% de suas energias atravessando 10 mm no tecido (1 cm no ar), cada interação pode conceder somente a pequena energia na equação (1). Portanto, partículas alfa são caracterizadas por uma perda alta de energia por unidade de caminho percorrido e uma alta densidade de ionização ao longo da trilha percorrida. Isso é chamado de partícula de *transferência de alta energia linear* (partícula LET).

A perda de energia na matéria, d*E*/d*x* ou poder de parada para energias alfa entre 0,2 e 10 MeV é dada por:

$$\frac{dE}{dx} = 3{,}8 \times 10^{-25}\, C \frac{NZ}{E} \ln\left\{548\frac{E}{I}\right\} \text{MeV/}\mu\text{m} \qquad (2)$$

em que, *N* é o número de átomos por centímetro cúbico no meio, *Z* o número atômico do meio, *I* o potencial de ionização do meio, *E* a energia da partícula alfa, e *C* a correção de carga para partículas alfa com energia abaixo de 1,6 MeV.

Uma simples regra pode ser utilizada para estimar o potencial de ionização de um composto ou elemento:

$$I = 10(Z) \qquad (3)$$

Quando partículas alfa estão próximas do fim de suas faixas, a carga não é constante a +2, mas pode ser +1 ou mesmo zero, assim que a partícula adquire ou perde elétrons. Um fator de correção, *C*, é necessário para energias entre 0,2 e 1,5 MeV para contabilizar esse efeito. Esses fatores variam de 0,24 a 0,2 MeV, 0,75 a 0,6 MeV, 0,875 a 1,0 MeV para 1,0 a 1,6 MeV.

No caso de tecido, a equação (2) se reduz a:

$$\frac{dE}{dx_{tecido}} = \left[0{,}126\frac{C}{E}\right] \ln\{7{,}99E\} \text{ MeV/}\mu\text{m} \qquad (4)$$

Exemplo 1. Encontre a perda de energia (poder de parada) de uma partícula alfa de 0,6 e de 5 MeV em tecido.

Para uma partícula alfa de 0,6 MeV:

$$\frac{dE}{dx} = \left[\frac{0{,}126(0{,}75)}{0{,}6}\right] \ln\{7{,}99 \times 0{,}6\} = 0{,}25 \text{ MeV/}\mu\text{m}$$

Para uma partícula alfa de 5,0 MeV:

$$\frac{dE}{dx} = \left[\frac{0{,}126(1{,}0)}{5{,}0}\right] \ln\{7{,}99 \times 5{,}0\} = 0{,}093 \text{ MeV/}\mu\text{m}$$

A partícula alfa mais lenta (menor energia) tem mais chance de interagir com a matéria, e a perda de energia por unidade de distância é maior. A significância dessa perda de energia é observada na medida em que ela necessita de 33,85 eV para produzir um íon par; portanto, uma partícula alfa de 5,0 MeV pode produzir ($0{,}25 \times 10^6$ eV/μm)/(33,86 eV/íon par) = 7.400 íons pares em 1 μm, ou dano suficiente para causar uma quebra em uma dupla fita.

Partículas beta

As equações para a perda de energia de partículas beta na matéria não podem ser simplificadas como no caso das partículas alfa, em razão de três fatores:

Mesmo em baixas energias de pequenas dezenas de MeV, partículas beta viajam próximas da velocidade da luz, e efeitos relativísticos (aumento de massa) devem ser considerados.

Elétrons estão interagindo com partículas da mesma massa no meio (elétrons nos orbitais ou livres), então grandes perdas por colisão são possíveis.

Perdas de energia radiativas ou por *bremsstrahlung* ocorrem quando elétrons ou pósitrons diminuem de velocidade na matéria. Essa perda também ocorre com partículas alfa, mas a magnitude dessa perda de energia é desprezível.

Incluindo os efeitos desses três fatores, a perda de energia para elétrons e pósitrons tem sido bem quantificada. Tabulações de perda de energia em vários meios têm sido preparadas com a perda de energia de ionização e perda radiativa detalhadas.

Raios gama

Fótons não têm massa ou carga. A interação entre um fóton e a matéria é, portanto, controlada pela interação de campos elétricos e magnéticos de um fóton com o elétron no meio. Há três modelos de interação com o meio.

O efeito fotoelétrico A interação do fóton com um elétron orbital no meio é completa, e a energia total do fóton é dada para o elétron.

O efeito compton Parte da energia do fóton é transferida para um elétron, e o fóton se dispersa (geralmente em um pequeno ângulo de seu caminho original) com energia reduzida. As expressões que governam são:

$$E' = E\frac{0{,}511}{1 + (1/a) - \cos\theta} \qquad (5)$$

$$T = E\frac{a(1 - \cos\theta)}{1 + a(1 - \cos\theta)}$$

em que E e E' são as energias iniciais e espalhadas do fóton (MeV), T a energia cinética do elétron (MeV), $a = E/0{,}511$, e θ o ângulo do espalhamento do fóton de seu caminho original.

Produção de par A produção de par ocorre onde a energia do fóton é maior do que o resto da massa de dois elétrons, 2(0,511 MeV) = 1,02 MeV. A energia eletromagnética do fóton pode ser convertida diretamente para um par elétron-pósitron, com excesso de energia acima de 1,02 MeV aparecendo como energia cinética dada para essas partículas.

Perda de energia de raio gama

A perda de fótons e a perda de energia de um feixe de fótons que atravessa uma matéria são descritas por dois coeficientes. O coeficiente de atenuação determina a perda fracional de fótons por unidade de distância (geralmente em unidades normalizadas de g/cm^2, que é a distância linear vezes a densidade do meio). O coeficiente de absorção de energia determina a deposição de energia fracional por unidade de distância percorrida. A perda de fótons do feixe é dada por:

$$\frac{I}{I_0} = \exp\left(\frac{-\mu}{\rho d}\right) \qquad (6)$$

em que I é a intensidade do feixe de fótons (número de fótons), I_o a intensidade do feixe, μ/ρ o coeficiente de atenuação no meio para a energia considerada (m^2/kg^2), e d a espessura do meio em unidade de densidade superficial kg/m^2 (espessura em m vezes a densidade em kg/m^3).

A densidade superficial é conveniente uma vez que normaliza a absorção de energia em diferentes meios. Ar e tecido têm, por exemplo, a mesma energia de absorção por kg/m^2, ao passo que em dimensão linear, a absorção de energia, por metro, é amplamente diferente. A energia realmente depositada no meio por unidade de distância é calculada utilizando-se o coeficiente

TABELA 25.1 Coeficiente de absorção de energia para ar e músculo

Energia do fóton (MeV)	Ar, μ_{en}/ρ (m^2/kg)	Músculo, estriado μ_{en}/ρ (m^2/kg)
0,01	0,46	0,49
0,015	0,13	0,14
0,02	0,052	0,055
0,03	0,015	0,016
0,04	0,0067	0,0070
0,05	0,0040	0,0043
0,06	0,0030	0,0032
0,08	0,0024	0,0026
0,10	0,0023	0,0025
0,15	0,0025	0,0027
0,20	0,0027	0,0029
0,30	0,0029	0,0032
0,40	0,0029	0,0032
0,50	0,0030	0,0033
0,60	0,0030	0,0033
0,80	0,0029	0,0032
1,00	0,0028	0,0031
1,50	0,0025	0,0028
2,00	0,0023	0,0026
3,00	0,0021	0,0023

de absorção de energia em oposição ao coeficiente de atenuação geral, e a perda de energia é dada por:

$$\Delta E = \left(\frac{\mu_{en}}{\rho}\right) E_0 \qquad (7)$$

em que ΔE é a perda de energia no meio por unidade de distância (MeV m^2/kg), μ_{en}/ρ o coeficiente de absorção de energia (m^2/kg^2), e E_0 a energia inicial do fóton.

Os valores para μ_{en}/ρ como função da energia do raio gama são apresentados na Tabela 25.1 para ar e músculo. A perda de energia pode ser expressa por unidade de distância linear multiplicando-se a densidade do meio (kg/m^3).

MECANISMOS DE DANO EM DNA E MUTAGÊNESE

Deposição de energia no núcleo celular

A radiação ionizante perde energia e diminui a velocidade formando íons pares (um átomo carregado positivamente e um elétron). Diferentes densidades de ionização resultam de raios gama, partículas beta e partículas alfa. Suas estruturas são amplamente caracterizadas como radiação esparsamente ionizante (ou baixo LET) até radiação densamente ionizante (alto LET). Cada rastro de radiação baixo LET, resultante de raios X ou raios gama, consiste em poucas ionizações atravessando um núcleo celular de tamanho médio (p. ex., um elétron acionado por um raio gama atravessando um núcleo de 8 mm de diâmetro fornece uma média de 70 ionizações, equivalente a aproximadamente 5 mGy [500 mrad] de dose absorvida). Rastros individuais variam amplamente sobre esse valor por causa da natureza estocástica da deposição de energia, isto é, a variabilidade dos íons pares por micrômetro e o caminho percorrido através do núcleo. Uma partícula alto LET produz milhares de ionizações e fornece relativamente uma alta dose para a célula. Um rastro de partícula alfa de 4 MeV, por exemplo, produz, em média, aproximadamente 30 mil ionizações (3 Gy, 300 rad) em um núcleo de uma célula de tamanho médio. Entretanto, dentro do núcleo, mesmo a radiação de baixo LET dará algumas microrregiões de relativa densidade de ionização sobre a dimensão da estrutura do DNA devido aos elétrons de baixa energia acionados.

Ionização direta e indireta

O rastro de ionização pode depositar energia diretamente no DNA (efeito direto) ou pode ionizar outras moléculas intimamente associadas com o DNA, o hidrogênio ou o oxigênio para formar radicais livres que podem danificar o DNA (efeito indireto). Dentro da célula, o efeito indireto ocorre em distâncias muito curtas, da ordem de poucos nanômetros. A distância de difusão dos radicais é limitada pela sua reatividade. Apesar de ser difícil medir precisamente as diferentes contribuições feitas pelos efeitos diretos e indiretos sobre os danos em DNA causados pela radiação de baixo LET, evidências dos removedores de radicais introduzidos nas células sugerem que aproximadamente 35% é exclusivamente direto, e 65% tem um componente indireto (removível).

Ambos os efeitos, direto e indireto, causam danos precoces no DNA, devido ao fato de que os radicais produzidos pela ionização direta do DNA podem reagir posteriormente para produzir radicais de DNA similares àqueles produzidos pelos radicais de água que o atacam.

Danos ao DNA

A ionização frequentemente rompe ligações químicas em moléculas celulares. Se a maioria das ionizações ocorre como evento isolado simples (radiação de baixo-LET), os rompimentos são, em geral, reparados por enzimas celulares. A densidade média de ionização por radiações de alto LET é tal que diversas ionizações podem ocorrer, pois a partícula atravessa a dupla hélice do DNA. Portanto, muito dos danos provenientes de radiações de alto LET, assim como a minoria de danos provenientes de radiações de baixo LET, irão resultar de grupamentos localizados de ionizações que podem romper a estrutura do DNA. Apesar de a extensão do grupamento local de ionizações no DNA proveniente de rastros simples de radiações de alto e baixo LET se sobrepor, rastros de radiação de alto LET são mais eficientes em induzir grupamentos maiores e, portanto, danos mais complexos. Além disso, radiações de alto LET induzem grupamentos de grande extensão de ionizações que não ocorrem com radiações de baixo LET; os danos resultantes podem ser irreparáveis e ter consequências celulares únicas. Quando uma célula é danificada pela radiação de alto LET, cada rastro irá gerar grande número de ionizações, de tal forma que a célula irá receber relativamente uma alta dose, e haverá uma probabilidade de danos correlacionados em uma simples molécula de DNA. Como consequência, a irradiação de uma população de células ou tecido com uma "baixa dose" de radiação de alto LET resulta em poucas células sendo atingidas com uma dose relativamente alta (um rastro) do que cada célula recebendo uma dose pequena. Em contraste, a radiação de baixo LET é mais uniformemente distribuída sobre a população de células. Em doses de radiação de baixo LET em excesso de aproximadamente 1,0 mGy (para um núcleo celular de tamanho médio de 8 mm de diâmetro), é provável que cada núcleo celular seja atravessado por mais que um rastro esparsamente ionizante.

A interação da radiação ionizante com o DNA produz numerosos tipos de danos. A Tabela 25.2 lista alguns danos produzidos que podem ser medidos após a irradiação de baixo LET no DNA, com uma estimativa bruta de suas abundâncias. As interações podem ser classificadas de acordo com a probabilidade de

TABELA 25.2 Produção estimada de danos no DNA em células de mamíferos causada pela exposição a radiação de baixo LET

Tipo de dano	Produção (número de defeitos por célula) Gy^{-1}
Quebras em fita simples	1.000
Danos na base*	500
Quebras em dupla fita	40
Ligações cruzadas em proteína e DNA	150

* Excisão de base em locais sensíveis à enzima ou detecção de timina glicol.

TABELA 25.3 Mortalidade de câncer por Gray proveniente de cinco grandes estudos epidemiológicos (em parênteses, o risco por Sievert para emissores de alfa)

Estudo	Todos os locais	Leucemia	Pulmão	Mama	Ossos	Tireoide	Pele
Bomba atômica corpo inteiro, gama	0,05	0,005	0,0085	0,002	0,0005	0,0008	0,0002
Minerador urânio epitélio bronqueal, alfa			(0,04) 0,0020				
Espondilite anquilosante, *raio X espinal*		0,0011	0,0008 0,0028	0,0015			
Tinea capitis, cabeça, raio X				0,0010**			0,0030***
Ingestão de rádio, ossos,* alfa (^{226}Ra)		0,004 (0,0002)					
Ingestão de rádio, **** ossos, alf (^{224}Ra)		0,02 (0,0010)					

* O risco na vida é calculado para uma dose média de 10 Gy, assumindo que o risco persiste por 50 anos. O risco é não linear e é aproximadamente 0,01 Gy^{-1} a 100 Gy, por exemplo.
** A mortalidade relativa à tireoide para homens e mulheres é estimada como 10% de incidência.
*** A mortalidade para o câncer de pele é estimado como 1% de incidência.
**** O risco de morte é calculado para uma dose média de 10 Gy. O risco é não linear e é aproximadamente 0,01 Gy^{-1} para uma dose de 1 Gy.

que elas irão causar uma alteração na fita simples, uma quebra na dupla fita ou um dano em DNA mais complexo (p. ex., quebra na dupla fita com danos adjacentes). Uma boa concordância tem sido obtida entre essas predições e as medidas diretas de quebras na fita simples. Apesar de as formas complexas de danos serem difíceis de quantificar com as técnicas experimentais atuais, o uso de enzimas que seccionam o DNA em locais de danos de bases sugere que a irradiação do DNA em solução fornece locais de danos complexos, consistindo principalmente de danos de bases intimamente espaçados (medidos como bases oxidadas de locais abásicos); quebras de duplas fitas foram associadas com somente 20% dos locais de danos complexos. É esperado que a ocorrência de tipos mais complexos de danos aumente com o aumento do LET, e que essa categoria de dano esteja menos sujeita a reparos do que as formas mais simples de danos.

Alguns dos danos no DNA causados pela radiação ionizante são quimicamente similares aos danos naturais que "espontaneamente" resultam da instabilidade térmica do DNA e de processos enzimáticos e oxidativos endógenos. Vários caminhos metabólicos produzem radicais oxidativos dentro da célula, e esses radicais podem atacar o DNA, produzindo danos e quebras. Os mais complexos tipos de danos causados pela radiação podem não ocorrer espontaneamente, pois concentrações localizadas de radicais endógenos são menos prováveis de serem geradas na proximidade imediata do DNA.

ESTUDOS HUMANOS DA TOXICIDADE DA RADIAÇÃO

Existem cinco grandes estudos relacionados aos prejuízos para a saúde resultantes da exposição humana à radiação ionizante. Outros estudos de grande população de trabalhadores expostos a baixos níveis de radiação e populações expostas ao radônio ambiental estão em progresso, mas não é esperado que forneçam novos dados para estimar o risco da radiação ionizante. Essas populações de trabalhadores, ou expostas ambientalmente, são estudadas para se certificar de que não há inconsistência nos dados do risco da radiação na extrapolação a maiores exposições. Os estudos básicos nos quais o cálculo quantitativo de risco é baseado incluem exposição ao rádio, sobreviventes da bomba-A, mineradores expostos ao radônio, pacientes irradiados com raio X para espondilite anquilosante e crianças irradiadas com raio X para *Tinea capitis* (fungo).

Os dados provenientes dos cinco grandes estudos estão resumidos na Tabela 25.3. Essa tabela apresenta os riscos de câncer durante a vida que são significantes. Os riscos são dados em unidades por Gray (ou por Sievert onde apropriado para emissores de alfa). Na tabela, leucemia e cânceres de pulmão e mama são os mais críticos. Sarcoma osteogênico é visto na exposição ao rádio. Não é clara uma dose-resposta linear para ^{224,226}Ra. O risco de câncer para órgãos individuais de diferentes grupos de estudo é de concordância geral independentemente do tipo de radiação ou exposição de corpo inteiro ou parcial.

EPIDEMIOLOGIA AMBIENTAL E DOMÉSTICA

Estudos ambientais

Há, pelo menos, 24 estudos publicados que tentam definir ou detectar o efeito da exposição ao radônio no ambiente. O padrão emergente dos estudos domésticos indica que o risco de câncer de pulmão pela exposição ao ^{222}Rn é difícil de determinar com exatidão ou precisão. Isso se deve principalmente ao grande *background* de mortalidade de câncer de pulmão causado pelo fumo.

Entre os 24 estudos domésticos publicados, 13 são estudos ecológicos e 11 são do tipo caso-controle. Estudos ecológicos dependem da relação da doença de uma população a alguma

medida do agente causador suspeito. Geralmente, não há dados suficientes para todas as variáveis envolvidas na doença para inferir qualquer associação confiável. Estudos ecológicos são os tipos mais fracos de exploração epidemiológica. A menos que um biomarcador para câncer induzido por radônio seja encontrado, é improvável que a epidemiologia ambiental seja efetiva na avaliação de risco. Os efeitos do radônio no ambiente são sutis comparados com a expressiva mortalidade de câncer de pulmão resultante do fumo.

Metanálise da epidemiologia ambiental

Uma metanálise combinou a informação publicada dos maiores estudos domésticos em um estudo sem realmente ter os dados brutos disponíveis. Os resultados apresentados na Figura 25.1 revelam que essencialmente nenhum estudo encontrou relação de mortes por câncer devido ao radônio que fosse estatisticamente significante. Entretanto, os autores afirmam que a tendência combinada no risco relativo com o aumento da exposição foi estatisticamente significante, com um RR estimado de 1,14 (95% CI = 1,0 a 1,3) em exposição de 150 Bq/m^3 (4 pCi/l).

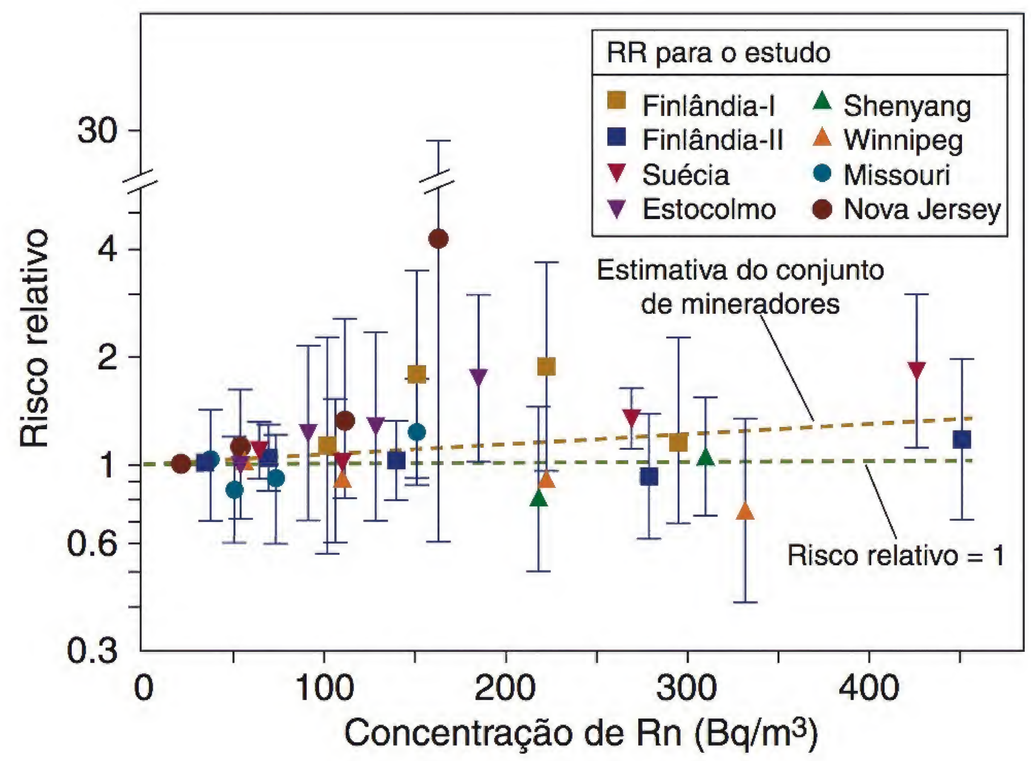


FIGURA 25.1 Metanálise de oito estudos domésticos caso-controle envolvendo radônio. A linha tracejada iguala a extrapolação dos mineradores, ao passo que a linha pontilhada representa o risco relativo de 1. (De Lubin JH & Boice JD: Lung cancer risk from residential radon: Meta-analysis of eight epidemiologic studies, J Natl Cancer Instit 89(1):49-57, 1997, com permissão da Oxford University Press.)

Os estudos domésticos

Uma grande quantidade de informações publicadas da exposição doméstica ao elemento tem estabelecido o risco de câncer de pulmão proveniente da exposição ao elemento. Os resultados dos estudos (índice de probabilidade ou risco relativo) apresentados na Figura 25.2 indicam que o risco de câncer de pulmão proveniente da exposição ao ^{222}Rn é evidente em exposições de

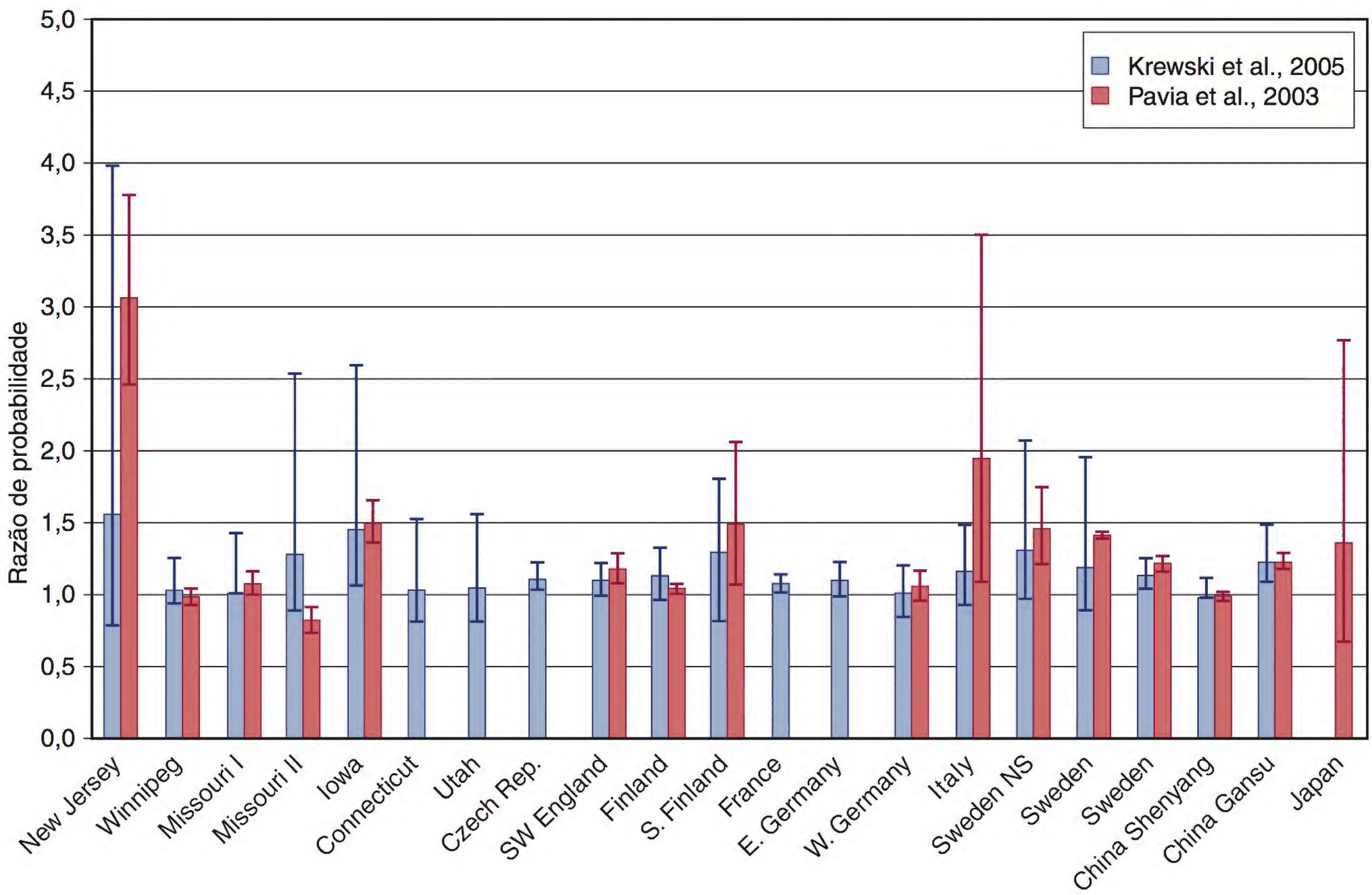


FIGURA 25.2 Dados resumidos de 21 estudos domésticos caso-controle. Dados de Pavia et al. (2003) e Kreski et al. (2005).

100 Bq/m^3. É interessante notar que a precisão dos estudos domésticos é agora melhor (menores intervalos de confiança) do que a dos estudos dos mineradores. Isso se deve provavelmente às estimativas mais exatas do tempo de exposição durante a vida. O presente estudo indica um risco relativo de aproximadamente 1,2, mas os intervalos de confiança, na maioria das vezes, não incluem risco. A menos que um marcador biológico para câncer induzido por radônio seja encontrado, é improvável que futuros estudos epidemiológicos domésticos refinem a estimativa de risco existente.

Metanálise da epidemiologia doméstica

Diversas metanálises e análises conjuntas têm combinado os maiores estudos domésticos para determinar se qualquer risco proveniente da exposição ao radônio é aparente. Nenhum estudo encontrou relação estatisticamente significante entre mortes de câncer devido ao radônio; a tendência combinada no risco relativo com o aumento da exposição foi significante, com um risco relativo estimado de 1,14 (95% CI = 1,0 a 1,3) em exposição de 150 Bq/m^3.

O que é conhecido sobre exposição ao radônio

Quatro conceitos têm surgido das pesquisas atuais com radônio:

1. A epidemiologia da mineração indica que curtas exposições a altos níveis de radônio e seus núcleos filhos produzem elevados índices de câncer de pulmão.
2. O tamanho da partícula pode mudar a real dose distribuída pelo radônio ao tecido bronquial, com pequenas partículas proporcionando doses substancialmente mais elevadas por unidade de exposição. O uso de chamas abertas, motores elétricos e o ambiente interno produzem maiores doses por unidade de exposição.
3. Fumantes apresentam maiores riscos ao radônio por unidade de exposição do que não fumantes.
4. Áreas urbanas quase universalmente apresentam baixos níveis de radônio, e moradores de apartamentos do andar térreo apresentam baixa exposição ao radônio em suas residências.

Os dados dos mineradores demonstram claramente que há risco de câncer de pulmão proveniente da exposição a altas concentrações de radônio em curto período, e modelos temporais podem ser derivados desses dados.

RADIOATIVIDADE NATURAL E RADIAÇÃO DE *BACKGROUND*

Experiências ocupacionais, acidentais e de guerra têm fornecido as bases para toda a estimativa atual de risco da radiação. Por muitos anos, os radioisótopos depositados internamente foram comparados com o ^{226}Ra para avaliar a carga corpórea máxima permitida para um emissor particular. Os limites atuais para a radiação externa e interna são baseados em estimativas de dose, que, por sua vez, podem ser relacionadas ao risco de câncer. Um padrão de comparação tem sido sempre a exposição a um *background* natural.

Uma dose substancial de radiação cósmica e da radiação terrestre externa proveniente de urânio, tório e potássio é recebida anualmente, da crosta terrestre. Emissores internos estão presentes no corpo como consequência da dieta e da inalação. O potássio, por exemplo, é um elemento necessário no corpo e está sob controle homeostático. O ^{40}K radioativo constitui uma constante

TABELA 25.4 Índices de dose equivalentes a vários tecidos provenientes de radionuclídeos naturais contidos no corpo

	Dose equivalente, mSv por ano			
Radionuclídeo	Epitélio bronquial	Tecido mole	Superfície dos ossos	Medula óssea
^{14}C	–	0,10	0,08	0,30
^{40}K	–	1,80	1,40	2,70
^{87}Rb	–	0,03	0,14	0,07
^{238}U-^{234}Th	–	0,046	0,03	0,004
^{230}Th	–	0,001	0,06	0,001
^{226}Ra	–	0,03	0,90	0,15
^{222}Rn	–	0,07	0,14	0,14
Filhos de ^{222}Rn	24	–	–	–
^{210}Pb-^{210}Po	–	1,40	7,00	1,40
^{232}Th	–	0,001	0,02	0,004
^{228}Ra-^{224}Ra	–	0,0015	1,20	0,22
^{220}Rn	–	0,001	–	–
Total	24	3,50	11,00	5,00

TABELA 25.5 Índice de dose efetiva estimado para um membro da população dos Estados Unidos e do Canadá de várias fontes de radiação de *background*

	Índice de dose efetiva total, mSv por ano					
Fonte	**Pulmão**	**Gônadas**	**Superfície dos ossos**	**Medula óssea**	**Outros tecidos**	**Total**
Fator de ponderação do tecido	0,12	0,25	0,03	0,12	0,48	1,0
Cósmica	0,03	0,07	0,008	0,03	0,13	0,27
Cosmogênica	0,001	0,002	–	0,004	0,003	0,01
Terrestre	0,03	0,07	0,008	0,03	0,14	0,28
Inalada	2,0	–	–	–	–	2,0
No corpo	0,04	0,09	0,03	0,06	0,17	0,40
Total	2,1	0,23	0,05	0,12	0,44	3,0

TABELA 25.6 Estimativa da liberação de radionuclídeos e dose efetiva coletiva de fontes de radiação provenientes da ação humana

	Liberação (PBq)						Dose efetiva coletiva,* Pessoa Sv	
Fonte	**^{3}H**	**^{14}C**	**Gases nobres**	**^{90}Sr**	**^{131}I**	**^{137}Cs**	**Local e regional**	**Global**
Teste nuclear atmosférico	240.000	220		604	650.000	910		2.230.000
Local								
Semipalatinsk							4.600	
Nevada							500**	
Austrália							700	
Teste no Pacífico							160[2]	
Teste nuclear subterrâneo			50		15		200	
Fabricação de armas nucleares								
Prática antiga							8.000***	
Hanford							15.000****	
Chelyabinsk							1.000	10.000
Prática posterior							30.000	
Produção de energia nuclear								
Mineração							2.700	
Operação de reator	140	1,1	3.200		0,04		3.700	
Reprocessamento de combustível	57	0,3	1.200	6,9	0,004	40	4.600	
Ciclo de combustível							300.000	100.000
Produção e uso de radioisótopos	2,6	1,0	52		6,0		2.000	

(*continua*)

TABELA 25.6 Estimativa da liberação de radionuclídeos e dose efetiva coletiva de fontes de radiação provenientes da ação humana (*Continuação*)

	Liberação (PBq)						Dose efetiva coletiva,* Pessoa Sv	
Fonte	^{3}H	^{14}C	Gases nobres	^{90}Sr	^{131}I	^{137}Cs	Local e regional	Global
Acidentes								
Three Mile Island			370		0,0006		40	
Chernobyl					630	70		600.000
Kyshtym				5,4		0,04	2.500	
Windscale		1,2			0,7	0,02	2.000	
Palomares							3	
Thule							0	
SNAP 9A								2.100
Cosmos 954				0,003	0,2	0,003		20
Ciudad Juarez							150	
Mohammedia							80	
Goiânia						0,05	60	
Total							380.000	23.100.000
Total da dose efetiva coletiva (Pessoa Sv)								23.500.000

* Truncado em 10 mil anos
** Somente dose externa
*** Liberação de ^{131}I para a atmosfera
**** Liberações de radionuclídeos no Rio Techa

fração de todo o potássio natural. O potássio representa a maior dose interna da dieta de 0,15 mSv por ano. Entretanto, os dados do consumo de outros radionuclídeos pela população americana são escassos. Dada a habitual distribuição de consumo de uma grande população, é provável que outros emissores, particularmente o ^{210}Pb e seu produto de decaimento, ^{210}Po, possam representar uma dose significante para uma fração da população. O ^{210}Pb, por exemplo, é encontrado em todos os produtos do tabaco e representa uma dose significante ao pulmão.

A dose mais alta recebida por uma população é aquela proveniente da inalação dos núcleos filhos de vida curta do radônio. Estes existem em toda a atmosfera, pois o radônio é liberado de maneira mais eficiente do ^{226}Ra nas rochas e no solo. Os núcleos filhos de vida curta, ^{218}Po, ^{214}Pb e ^{214}Bi–^{214}Po, têm meia-vida efetiva de 30 min, mas o radônio precursor de 3,8 dias favorece a presença deles na atmosfera.

As concentrações ao ar livre em cada Estado dos Estados Unidos foram medidas e resumidas como 15 Bq/m^3, e em ambiente interno como 40 Bq/m^3. Uma estrutura como uma casa previne a ascendente distribuição do radônio na atmosfera, e níveis substanciais podem se formar internamente. A fonte de radônio é o solo; portanto, níveis acima do solo equivalem geralmente de um terço a um quinto da concentração medida no porão. Uma efetiva barreira sobre a interface solo-construção também inibe a entrada de radônio nas construções. Ventilação com ar externo reduz o radônio interno. Por essa razão, construções industriais com mais fundações substanciais e mais ventilações tendem a ter menores concentrações de radônio do que casas simples. Apartamentos acima do nível do solo apresentam aproximadamente metade da concentração média de radônio encontrada em casas.

Uma concentração média interna de radônio de 40 Bq/m^3 resulta em uma dose equivalente para epitélio bronquial de 24 mSv por ano ou uma dose efetiva de 2 mSv por ano. A dose equivalente para outros importantes emissores internos naturais é apresentada na Tabela 25.4. A dose real acumulada por um indivíduo depende de hábitos alimentares, localização (p. ex., em altitude de 1,6 km, Denver possui o dobro da média de exposição a raios cósmicos) e moradia. A Tabela 25.5 fornece índices de dose estimados provenientes de várias fontes de radiação de *background*.

Liberação ambiental local

Acidentes de pequena e grande escala continuam a liberar radioatividade no ambiente. O acidente no reator nuclear de Windscale, em 1957, foi um incidente local na Grã-Bretanha. A

população próxima tem sido estudada por mais de 30 anos sem o aparecimento de efeitos significativos para a saúde. O acidente nuclear de Three Mile Island causou enorme dano financeiro, mas a estrutura de contenção não se rompeu, e virtualmente nenhuma radioatividade escapou. No acidente nuclear de Chernobyl, a contenção falhou, e a radioatividade espalhou-se pela Europa. O Comitê Científico das Nações Unidas para os Efeitos da Radiação Atômica resumiu a dose por meio de medidas feitas nos países afetados pelas diversas contaminações (Tab. 25.6). Exposições locais e doses provenientes de acidentes podem aumentar com o uso crescente de materiais radioativos na indústria, para pesquisa e para diagnóstico médico.

REFERÊNCIAS

Bushong SC: *Radiologic Science for Technologists: Physics, Biology and Protection*, 9th ed. St. Louis: Mosby, 2008.

Forshier S: *Essentials of Radiation Biology and Protection*, 2nd ed. Albany, NY: Delmar, 2008.

Krewski D, Lubin JH, Zielinski JM, Alavanja M, Catalan VS, Field RW, Klotz JB, Létourneau EG, Lynch CF, Lyon JI, Sandler DP, Schoenberg JB, Steck DJ, Stolwijk JA, Weinberg C, Wilcox HB. Residential radon and risk of lung cancer: a combined analysis of 7 North American case-control studies. *Epidemiology* 16: 137-45, 2005.

Pavia M, Bianco A, Pileggi C, Angelillo IF. Meta-analysis of residential exposure to radon gas and lung cancer. *Bull World Health Organ*. 81:732-8, 2003.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes alternativas NÃO é um tipo principal de radiação?
   a. Partículas alfa
   b. Micro-ondas
   c. Partículas beta
   d. Raios gama
   e. Raios X

2. Qual das seguintes afirmações considerando partículas alfa é FALSA?
   a. Partículas alfa são ejetadas do núcleo de um átomo.
   b. O número atômico diminui em dois após a emissão de uma partícula alfa.
   c. O peso atômico diminui em dois após a emissão de uma partícula alfa.
   d. As energias da maioria das partículas alfa variam entre 4 e 8 MeV.
   e. Partículas alfa são núcleos de hélio.

3. Qual dos seguintes tipos de radiação é, provavelmente, o MAIS energético?
   a. Partículas alfa
   b. Partículas beta
   c. Emissão de pósitrons
   d. Captura de elétrons
   e. Emissão de fótons

4. A produção de par e o efeito compton caracterizam qual tipo de interação da radiação com a matéria?
   a. Partículas alfa
   b. Partículas beta
   c. Emissão de pósitrons
   d. Captura de elétrons
   e. Emissão de fótons

5. Qual das seguintes afirmações considerando dano ao DNA causado pela radiação é FALSA?
   a. A radiação ionizante diminui a velocidade pela formação de íon par.
   b. A principal forma de dano ao DNA causado pela radiação ocorre pela produção de radicais livres.
   c. A radiação de alto LET causa mais ionizações do que a radiação de baixo LET.
   d. A maioria dos danos em DNA causados pela radiação ocorre diretamente.
   e. As ionizações direta e indireta causam danos similares ao DNA.

6. A radiação de baixo LET:
   a. causa ionizações de larga escala por toda a célula.
   b. resulta da emissão de partículas alfa.
   c. causa danos que são prontamente reparados pelas enzimas celulares.
   d. é também conhecida como radiação densamente ionizante.
   e. geralmente causa danos irreparáveis para a célula.

7. Qual é o tipo mais comum de dano ao DNA causado pela exposição à radiação de baixo LET?
   a. Danos nas bases
   b. Ligações cruzadas de DNA e proteína
   c. Quebras em fita simples
   d. Quebras em dupla fita
   e. Formação de dímeros de timina

8. Qual das seguintes afirmações considerando a exposição ao radônio é FALSA?
   a. Mineradores são expostos a altos níveis de radônio ambiental.
   b. A exposição ao radônio tem sido relacionada ao desenvolvimento de câncer no pulmão.
   c. Fumantes apresentam maiores riscos de exposição ao radônio.
   d. Níveis de radônio são relativamente maiores em áreas urbanas do que em áreas rurais.
   e. O uso de chamas abertas no interior de ambientes aumenta a exposição ao radônio.

9. A maior dose de radiação é recebida de qual das seguintes fontes?
   a. Inalação
   b. No corpo
   c. Cósmica
   d. Cosmogênica
   e. Terrestre

10. Qual é o maior contribuinte para a dose efetiva de radiação da população dos Estados Unidos?
    a. Medicina nuclear
    b. Raios X médicos
    c. Terrestre
    d. Interna
    e. Radônio

Efeitos Tóxicos de Venenos de Animais Terrestres e Envenenamentos*

CAPÍTULO 26

John B. Watkins III

PROPRIEDADES DE TOXINAS ANIMAIS

ARTRÓPODES

ARACNÍDEOS

- **Escorpiões**
- **Aranhas**
  - Espécie *Agelenopsis* (aranha-teia-de-funil americana)
  - Espécie *Latrodectus* (aranhas viúvas)
  - Espécie *Loxosceles* (aranhas-marrom ou violino)
  - Espécie *Steatoda*
  - Espécie *Cheiracanthium* (aranhas corredoras)
  - Espécie *Theraphosidae* (tarântulas)
- **Carrapatos**

QUILÓPODES (CENTOPEIAS)

DIPLÓPODES (MILÍPEDES)

INSETOS

- **Heteroptera (percevejos)**
- **Hymenoptera (formigas, abelhas, vespas e vespões)**
  - Formicidae (formigas)
  - Apidae (abelhas)
  - Vespidae (vespas)
- **Lepidoptera (lagartas, mariposas e borboletas)**

MOLUSCOS (CARACÓIS CÔNICOS)

RÉPTEIS

- **Lagartos**
- **Serpentes**
  - Venenos de serpentes
  - Enzimas
  - Polipeptídeos
  - Toxicologia
  - Tratamento de mordidas de serpentes
  - Evolução do veneno de serpentes

ANTIVENENOS

PONTOS-CHAVE

- Animais peçonhentos produzem veneno em um grupo de células ou uma glândula secretória altamente desenvolvida e podem inocular suas toxinas durante o ato da mordida ou picada.
- Animais venenosos são aqueles cujos tecidos, tanto em partes como na sua totalidade, são tóxicos. Intoxicações geralmente ocorrem por meio da ingestão.
- A biodisponibilidade do veneno é determinada por meio de sua composição, do tamanho da molécula, da quantidade ou do gradiente de concentração, da solubilidade, do grau de ionização e da taxa de fluxo sanguíneo no tecido, bem como pelas propriedades da superfície afetada.
- A distribuição da maioria das frações do veneno é bastante irregular, sendo afetada por ligação proteica, por variações de pH e da permeabilidade da membrana, entre outro fatores.
- Um veneno pode, também, ser metabolizado em alguns ou em muitos tecidos diferentes.
- Devido a sua composição proteica, muitas toxinas produzem uma resposta imunológica; essa resposta é essencial na produção de antissoros (ou antivenenos).

* N. de T.: Grande parte das informações deste capítulo se reporta apenas aos envenenamentos ocorridos na América do Norte.

Animais peçonhentos são capazes de produzir um veneno em um grupo de células ou uma glândula exócrina altamente desenvolvida e podem liberar suas toxinas durante o ato da mordida ou picada. Animais venenosos não têm mecanismo ou estrutura para inocular seus venenos, e as intoxicações geralmente ocorrem por meio de sua ingestão.

PROPRIEDADES DE TOXINAS ANIMAIS

Venenos (ou peçonhas) são muito complexos, contendo polipeptídeos, proteínas de alto e baixo peso molecular, aminas, lipídeos, esteroides, glucosídeos, aminopolissacarídeos, quinonas e aminoácidos livres, bem como serotonina, histamina e outras substâncias. A complexidade de venenos de serpentes é ilustrada na Figura 26.1.

O desenvolvimento de novos instrumentos tem permitido aos pesquisadores desvendar a complexidade de venenos naturais, identificando, assim, seus componentes peptídicos e proteicos. Infelizmente, estudos químicos, farmacológicos e toxicológicos de venenos requerem seu isolamento e fracionamento, perdendo o sinergismo entre os múltiplos componentes. No entanto, tecnologias avançadas permitirão o sequenciamento de peptídeos e a caracterização de modificações pós-translacionais, tais como glicosilação e a descoberta de novos grupos farmacóforos.

A biodisponibilidade do veneno é determinada por sua composição, tamanho da molécula, quantidade ou gradiente de concentração, solubilidade, grau de ionização e taxa de fluxo sanguíneo no tecido, bem como pelas propriedades da superfície afetada. O veneno pode ser absorvido por transporte ativo ou passivo, por difusão facilitada ou, até mesmo, por pinocitose. Na sequência, ele é transmitido para o leito vascular, às vezes

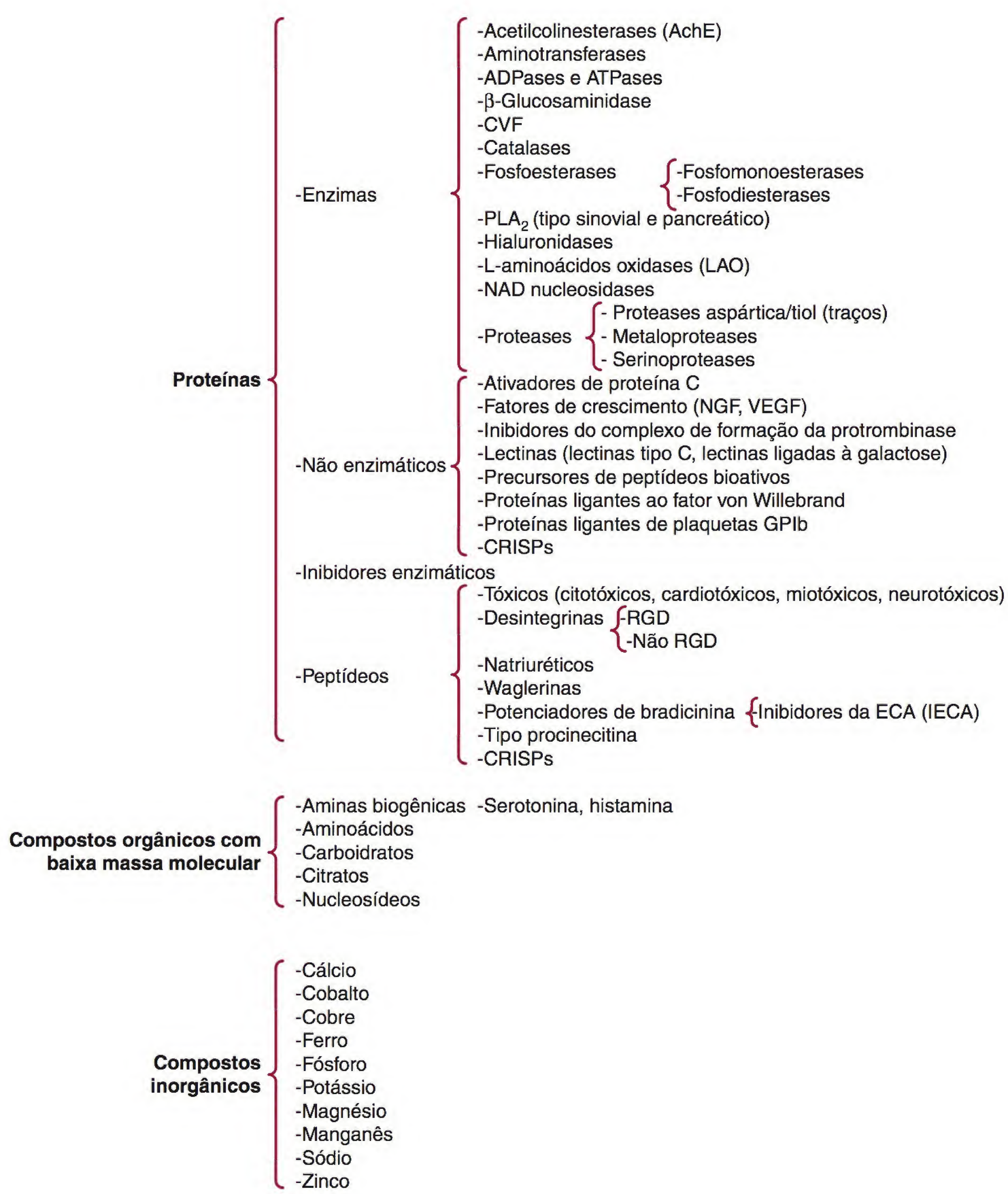


FIGURA 26.1 Componentes de venenos de serpentes. ECA = enzima conversora de angiotensina; CRISP = proteína secretória rica em cistina; CVF = proteínas tipo fator de veneno de cobra; LAO = L-aminoácido oxidase; PLA_2 = fosfolipase A_2; RGD = arginina-glicina-aspartato. (Reimpressa com permissão de Ramos OHP, Selistre-de-Araujo HS: Snake venom metalloproteases – structure and function of catalytic and desintegrin domains. *Comp Biochem Physiol, Part C* 142:328-346, 2006. Copyright © Elsevier.)

diretamente, outras, por meio de canais linfáticos. A circulação linfática não carrega apenas o fluido intersticial excedente produzido pelo veneno, mas também transporta componentes de pesos moleculares mais altos e outras partículas de volta para a corrente sanguínea.

O sítio de ação do veneno é dependente de sua difusão e partição ao longo do gradiente entre o plasma e o tecido no qual os componentes são depositados. Uma vez que a toxina atinge um sítio particular, sua entrada nele depende da taxa do fluxo sanguíneo no tecido, da massa da estrutura e das características de partição da toxina entre o sangue e o tecido envolvido. Os receptores parecem ter graus de sensibilidade altamente variáveis. Com venenos complexos, podem existir muitos receptores. Existe, também, variedade considerável na sensibilidade dos receptores para os diferentes componentes do veneno.

O veneno pode ser metabolizado em vários tecidos diferentes. Alguns componentes são metabolizados distantes dos sítios dos receptores e podem não atingir o receptor primário em quantidade suficiente para afetar aquele sítio. A quantidade de toxina que os tecidos podem metabolizar sem pôr o organismo em perigo também pode variar. Órgãos ou tecidos podem conter enzimas que catalisam uma série de reações, incluindo as deletérias. Uma vez que um componente de veneno é metabolizado ou, de alguma forma, alterado, o metabólito final é excretado, principalmente pelos rins. Os intestinos desempenham um papel menor. A excreção pode ser prejudicada pela ação do veneno nos rins.

ARTRÓPODES

Mais de um milhão de espécies de artrópodes costumam ser divididos em 25 ordens. Apenas cerca de 10 ordens têm importância médica significativa. Estas incluem os aracnídeos (escorpiões, aranhas, escorpiões-chicote, solífugos, ácaros e carrapatos), os miriápodes (quilópodes e diplópodes), os insetos (baratas d'água e percevejos "assassinos", entre outros), besouros (besouros vesicantes), lepidópteros (borboletas, mariposas e lagartas) e himenópteros (formigas, abelhas e vespas). A maioria dos artrópodes não tem presas e ferrões longos e fortes o suficiente para penetrar na pele humana.

O número de mortes por picadas e mordidas de artrópodes não é conhecido. Entretanto, mortes por picadas de escorpiões excedem milhares por ano, enquanto mortes por picadas de aranha provavelmente não passem de 200 por ano no mundo todo. Um problema comum encarado pelos médicos em suspeitar de picadas de aranha está relacionado a diagnósticos diferenciais. Os artrópodes frequentemente envolvidos em erros de diagnóstico são carrapatos (incluindo suas peças bucais incorporadas), ácaros, percevejos de cama, pulgas (picadas de pulgas infectadas), insetos lepidópteros, moscas, besouros vesicantes, baratas d'água e vários himenópteros que picam. Entre as doenças que podem ser confundidas com mordidas ou picadas de artrópodes ou de aranhas estão eritema crônico migratório, eritema nodoso, periartrite nodosa, pioderma gangrenoso, resposta celular a fungo (tipo *kerion*), síndrome de Stevens-Johnson, necrólise epidérmica tóxica, herpes simples e púrpura fulminante.

Qualquer outro artrópode pode morder ou picar e não injetar o veneno. Alguns envenenamentos por artrópodes dão origem a sinais e sintomas de existência de doença subclínica não diagnosticada. Em alguns casos, picadas ou mordidas podem induzir reações de estresse, revelando alguma doença que, até então, não era reconhecida.

ARACNÍDEOS

Escorpiões

Entre as mais de mil espécies de escorpiões, pelo menos 75 podem ser consideradas de toxicidade suficiente para justificar atenção médica. Algumas das espécies mais importantes estão relacionadas na Tabela 26.1. O perigoso escorpião "casca", *Centruroides exilicauda,* é frequentemente encontrado escondido sob cascas soltas de árvores, árvores mortas ou toras e pode frequentar habitações humanas. De coloração palha a marrom-amarelado ou marrom-avermelhado, ele é, na maioria das vezes, facilmente distinguível de outros escorpiões no mesmo hábitat pelo seu télson (cauda) longo e fino ou pelos seus pedipalpos (garras tipo pinça) finos.

Muitos venenos de escorpiões contêm proteínas de baixo peso molecular, peptídeos, aminoácidos, nucleotídeos e sais, entre outros componentes. As frações neurotóxicas são, em geral, classificadas com base em seu tamanho molecular, sendo as toxinas de cadeia curta compostas por 20 a 40 resíduos de aminoácidos com 3 ou 4 pontes dissulfetos e afetando, ao que parece, canais de potássio ou de cloro; as toxinas de cadeia longa têm de 58 a 76 aminoácidos com 4 pontes dissulfeto e afetam, sobretudo, o canal de sódio. As toxinas podem ligar-se seletivamente a um canal específico de células excitáveis, prejudicando, então, a despolarização inicial do potencial de ação nos nervos e músculos afetados.

Os sinais e sintomas de envenenamento por escorpiões diferem consideravelmente dependendo da espécie. A picada ocasionada por membros da família *Vaejovidae* dá origem a dor localizada, edema, perda de sensibilidade e parestesia leve. Reações sistêmicas são raras, embora fraqueza, febre e fasciculações musculares tenham sido descritas. Envenenamento por algumas espécies do gênero *Centruroides* pode ou não produzir dores ini-

TABELA 26.1 Localização de alguns escorpiões de importância médica

Gênero	Distribuição
Espécie *Androctonus*	Norte da África, Oriente Médio e Turquia
Espécie *Buthus*	França e Espanha até o Oriente Médio e o norte da África, Mongólia e China
Espécie *Buthotus*	África, Oriente Médio e Ásia Central
Espécie *Centruroides*	América do Norte, Central e do Sul
Espécie *Heterometrus*	Ásia Central e sudeste da Ásia
Espécie *Leiurus*	Norte da África, Oriente Médio e Turquia
Espécie *Mesobuthus*	Turquia e Índia
Espécie *Parabuthus*	Sul da África
Espécie *Tityus*	América Central e do Sul

ciais em crianças. Entretanto, a área torna-se sensível ao toque, e apenas uma leve pressão no local da lesão irá produzir uma retração imediata. A criança envenenada fica tensa e inquieta e mostra movimentos de cabeça e pescoço anormais e aleatórios. Com frequência, irá apresentar movimentos errantes e rotatórios do globo ocular. Taquicardia, bem como hipertensão, costumam ser evidentes dentro de 45 minutos. As frequências respiratória e cardíaca são aumentadas, e, após 90 minutos, a criança pode parecer bastante doente. Fasciculações podem ser vistas na face ou em grandes massas musculares, e a criança pode queixar-se de fraqueza generalizada e apresentar ataxia ou fraqueza motora. Opistótono não é incomum. Dificuldade respiratória pode evoluir para paralisia respiratória. Salivação excessiva pode favorecer a piora da função respiratória. Fala arrastada pode estar presente, e podem ocorrer convulsões. Se não ocorrer óbito, a criança geralmente se torna assintomática dentro de 36 a 48 horas.

Em adultos, o quadro clínico é similar, porém existem algumas diferenças. Quase todos os adultos reclamam de dor imediata após a picada, independentemente da espécie de *Centruroides* envolvida. Eles ficam tensos e ansiosos, desenvolvendo tarquicardia, hipertensão e aumento da frequência respiratória. Podem reclamar de dificuldade de concentração e deglutição. Em alguns casos, existe fraqueza geral e dor ao mover a extremidade lesada. Ataxia e incoordenação motora podem ocorrer. Muitos adultos são assintomáticos em um período de 12 horas, mas podem se queixar de fraqueza generalizada por 24 horas ou mais.

Aranhas

Das 30 mil ou mais espécies, pelo menos 200 têm sido implicadas em picadas significativas em humanos. A Tabela 26.2 apresenta uma pequena lista de aranhas, suas toxinas e o alvo dessas toxinas.

TABELA 26.2 Algumas aranhas importantes, suas toxinas e o alvo de suas toxinas

Aranha	Peptídeo	Alvo*
Acanthoscurria gomesiana	Gomesina	PLM
Agelenopsis aperta	ω-Afal-IVA μ-Afatoxina 1-6	Ca^{2+} Na^{+}
Grammostola spatula	HaTx1,2 GsMTx2,4 GSTxSIA	K^{+} MS Ca^{+2}
Hadronyche versuta	ω-ACTX-Hv1a ω-ACTX-Hv2a δ-ACTX-Hv1a	Ca^{2+} Ca^{2+} Na^{+}
Heteroscodra maculate	HmTx1,2	K^{+}
Ornithoctonus huwena	Huwentoxina I Huwentoxina IV	Ca^{2+} Na^{+}
Psalmopoeus cambridgei	PcTx1	ASIC
Phrixotrichus auratus	PaTx1,2	K^{+}
Thrixopelma pruriens	ProTxI,II	Na^{+}

* PLM = membranas fosfolipídicas; Ca^{2+}, K^{+} e Na^{+} = canais iônicos de cálcio, potássio e sódio; MS = canais iônicos mecanossensíveis; ASIC = canais iônicos sensíveis a ácidos.

Venenos de aranhas são misturas complexas de compostos de baixo peso molecular, incluindo íons e sais inorgânicos, ácidos livres, aminoácidos livres de glicose, aminas biogênicas e neurotransmissores e toxinas polipeptídicas. A Tabela 26.3 lista os efeitos locais e sistêmicos para casos conhecidos dos principais grupos de aranhas da Austrália.

Espécie *Agelenopsis* (aranha-teia-de-funil americana) Essas aranhas contêm 3 classes de agatoxinas cujos alvos são canais iônicos: (1) α-agatoxinas parecem ser uso-dependente, antagonistas não competitivos do receptor de glutamato; (2) μ-agatoxinas causam aumento da liberação espontânea de neurotransmissores de terminais pré-sinápticos e potenciais de ação repetitivos em neurônios motores e são específicas para canais de sódio de insetos; e (3) as quatro ω-agatoxinas podem ser distinguidas por meio da similaridade sequencial e de seu espectro de ação contra canais de cálcio de insetos e vertebrados.

Espécie *Latrodectus* (aranhas viúvas) Encontradas em todos os continentes com clima temperado ou tropical, essas aranhas costumam ser conhecidas como viúva-negra, viúva-marrom ou pernas vermelhas, ampulheta, madame veneno, aranha mortal, aranha do ventre vermelho, aranha T, aranha madame cinza e aranha botão de sapato. Embora ambos, macho e fêmea, sejam peçonhentos, somente as fêmeas têm presas grandes e fortes o suficiente para penetrar na pela humana. O veneno contém uma família de proteínas com cerca de 1.000 resíduos de aminoácidos, as latrotoxinas. A α-latrotoxina é uma toxina pré-sináptica que exerce seu efeito tóxico no sistema nervoso central de vertebrados, despolarizando neurônios pelo aumento de $[Ca^{+2}]$ e pelo estímulo da exocitose de neurotransmissores de terminais nervosos.

Mordidas de viúva-negra são descritas como agudas e tipo alfinetadas, seguidas por uma dor mal caracterizada e, às vezes, entorpecimento na extremidade da área afetada e por dor e câibras em uma ou várias grandes massas musculares. Raramente ocorre alguma reação local de pele, exceto durante os primeiros 60 minutos após a picada. Fasciculações musculares podem ser vistas com frequência dentro de 30 minutos após a lesão. Sudorese é comum, e o paciente pode queixar-se de fraqueza e dor nos nódulos linfáticos próximos ao local da picada, os quais são frequentemente sensíveis na palpação e, às vezes, aumentados; linfadenite é bastante observada. Dor na região lombar, nas coxas ou no abdome é queixa comum; rigidez na musculatura abdominal é vista na maioria dos casos nos quais o envenenamento foi grave. Podem ocorrer intensos e recorrentes espasmos musculares; artralgia tem sido relatada. Hipertensão é comum, em especial em idosos, após envenenamentos moderados a graves.

Espécie *Loxosceles* (aranhas-marrom ou violino) Diversamente conhecida na América do Norte como aranha do dorso em forma de violino ou reclusa marrom, o abdome desses animais varia da cor acinzentada a laranja e da marrom-avermelhada a negra e é diferente do cefalotórax amarelo-pálido a marrom-avermelhado. Ambos, machos e fêmeas, são peçonhentos.

Venenos de *Loxosceles* podem conter fosfolipase, protease, esterase, colagenase, hialuronidase, desoxirribonuclease, ribonuclease, dipeptídeos, fator dermonecrótico e esfingomielinase D.

A mordida dessa aranha produz quase o mesmo grau de dor que a de uma picada de formiga. A sensação de queimadura no local pode durar de 30 a 60 minutos em torno da lesão, com leve

TABELA 26.3 Comparação de efeitos clínicos de mordidas por algumas aranhas da Austrália

Efeitos clínicos	*Lactrodectus* Aranhas de dorso vermelho	*Steatoda* Aranhas de armário	*Lamponidae* Aranhas-de-cauda-branca	*Mygalomorphae* FWS, Aranha-camundongo, Aranha-de-alçapão
Dor intensa (porcentagem)	62	26	27	49
Duração da dor	36 h	6 h	5 min	60 min
Marca das presas (porcentagem)	6	17	17	58
Eritema inicial	74	96	83	36
Edema (porcentagem)	7	9	8	13
Coceira (porcentagem)	38	48	44	0
Náusea, vômito, cefaleia, mal-estar (porcentagem)	35	30	9	36
Picada em membro distal (porcentagem)	46	52	82	91

vermelhidão e ligeiro edema. Nos casos mais graves, ocorre prurido sobre a área, a qual se torna avermelhada, com pequena área esbranquiçada ou pálida ao redor da mordida. A temperatura da pele geralmente é elevada no local da lesão. A área avermelhada aumenta e torna-se violácea dentro de 1 a 8 horas. Subsequentes hemorragias podem ocorrer por toda a área. Uma pequena bolha ou vesícula, que se forma no local da picada, aumenta em tamanho até se romper e formar uma pústula. A área vermelha hemorrágica continua a aumentar, assim como a pústula. Toda a área pode tornar-se edemaciada e dolorida, e linfoadenopatia é comum.

Nos acidentes graves, efeitos sistêmicos como febre, mal-estar, cólicas estomacais, náusea, vômito, icterícia, aumento do baço, hemólise, hematúria e trombocitopenia podem estar presentes. Fatalidades, embora raras, são precedidas por hemólise intravascular, anemia hemolítica, trombocitopenia, hemoglobinúria e falência renal.

Espécie *Steatoda* Essas aranhas costumam ser conhecidas como falsa viúva-negra, aranha de pé de pente, de teia ou de armário. Picada por *S. grossa* ou *S. fulva* é seguida por dor local, frequentemente intensa, bem como por endurecimento, prurido e rachaduras no tecido no local da lesão.

Espécie *Cheiracanthium* (aranhas corredoras) *C. punctorium, C. inclusum, C. mildei, C. diversum* e *C. japonicum* são aranhas que costumam morder. O abdome é convexo e em forma de ovo e varia na cor de amarelo, verde ou branco-esverdeado a marrom-avermelhado; o cefalotórax é, em geral, levemente mais escuro do que o abdome. As quelíceras são fortes e as pernas são longas, peludas e delicadas. A *Cheiracanthium* tende a ser persistente e, algumas vezes, deve ser removida da área lesada. O veneno tem uma proteína de 60 KDa altamente tóxica e altas concentrações de noradrenalina e serotonina.

A picada é lacerante e dolorosa, com aumento da dor durante os primeiros 30 a 45 minutos. Uma pápula avermelhada com borda hiperemiada se desenvolve. Petéquias pequenas podem aparecer próximo ao centro da pápula. Linfadenite e linfadenopatia podem se desenvolver. A *C. japonicum* produz efeitos mais graves, que incluem dor local intensa, náusea, vômito, prurido intenso, cefaleia, desconforto no peito e choque.

Espécie *Theraphosidae* (tarântulas) Tarântulas alimentam-se de várias presas vertebradas e inveterbradas, as quais são capturadas após envenenamento com uma peçonha que atua rápida e irreversivelmente no sistema nervoso periférico e central. Em humanos, há relatos de dor local moderada a intensa, forte prurido e sensibilidade local que podem durar várias horas. Edema, eritema, rigidez articular, membros edemaciados, sensação de queimadura e espasmos são comuns. Em casos mais graves, câibras fortes e espasmos musculares com duração de muitas horas podem ser observados.

Carrapatos

A paralisia por carrapato é causada pela saliva de, pelo menos, 60 espécies de carrapatos das famílias Ixodidae, Argasidae e Nuttalliellidae. A picada do carrapato envolve inserção de partes bucais tubulares cortantes através da pele do hospedeiro com ancoragem de modo que o carrapato pode se alimentar por horas, dias ou semanas. A saliva das glândulas salivares flui para fora inicialmente, e o sangue flui para dentro a seguir. A saliva contém muitos constituintes ativos, incluindo apirase, cininase, glutationa peroxidase, uma proteína anticomplemento, proteínas ligantes de amina (que liga serotonina e histamina) e prostanoides. Carrapatos são conhecidos por transmitirem organismos que causam doença de Lyme, febre maculosa da Montanha Rochosa, babesiose, leptospirose, febre Q, erliquiose, tifo, encefalite de carrapato, entre outras doenças.

Picadas de carrapatos, muitas vezes, não são percebidas; a primeira evidência do envenenamento pode não aparecer até muitos dias depois, quando pequenas máculas se desenvolvem. O paciente frequentemente se queixa de dificuldade de marcha seguida por paresia e, por fim, paresia locomotora e paralisia. Problemas na fala e na respiração podem suceder e levar a parada respiratória se o carrapato não for removido. A remoção do carrapato geralmente resulta em uma rápida e completa recuperação, embora a regressão da paralisia possa ocorrer lentamente.

Os carrapatos que causam paralisia em humanos e em animais domésticos podem ser os mesmos, e é a duração da exposição à alimentação do carrapato que determina o grau do envenenamento. Esses comentários são específicos somente para envenenamento por carrapato, e não para reações alérgicas, transmissão de doenças ou outras complicações de picadas de carrapatos.

QUILÓPODES (CENTOPEIAS)

Esses artrópodes alongados, segmentados, amarelo-amarronzados são encontrados em todo o mundo. O primeiro par de patas atrás da cabeça é modificado em mandíbulas venenosas. O veneno é concentrado dentro de grânulos intracelulares, descarregado em vacúolos do citoplasma de células secretórias e movido por exocitose para o lúmen da glândula; a partir daí, ductos levam o veneno para a mandíbula.

Os venenos de centopeias contêm proteínas de alto peso molecular, proteinases, esterases, serotonina, histamina, lipídeos e polissacarídeos. Tais venenos contêm uma proteína de 60 KDa cardiotóxica termolábil que produz alterações associadas com a liberação de acetilcolina. A picada produz sangramento imediato, vermelhidão e edema, muitas vezes com duração de até 24 horas. Alterações teciduais localizadas e necrose têm sido relatadas, e envenenamento grave pode causar náusea e vômito, alterações na frequência cardíaca, vertigem e cefaleia. Nos casos mais graves, podem ocorrer distúrbios mentais.

DIPLÓPODES (MILÍPEDES)

Medindo em comprimento de 20 a 300 mm, esses artrópodes são cilíndricos, criaturas vermiformes, de cor mogno a marrom-escuro ou preto, tendo dois pares de pernas articuladas por segmento. As lesões produzidas por diplópodes consistem em sensação de queimação ou formigamento e desenvolvimento de lesão amarelada ou marrom-arroxeada; em seguida, forma-se uma bolha contendo fluido serossanguinolento, que pode se romper. O contato com os olhos pode causar conjuntivite aguda, edema periorbital, queratose e muita dor.

INSETOS

Heteroptera (percevejos)

Os percevejos mais importantes clinicamente são os Reduviidae (os reduviídeos): barbeiro, percevejo assassino, percevejo com nariz cônico, entre outros. As espécies mais envolvidas parecem ser *Triatoma protracta*, *T. rubida*, *T. magista*, *Reduvius personatus* e *Arilus cristatus*. O veneno desses barbeiros contém atividade apirase e é razoavelmente rico em propriedade protease. Ele inibe a agregação plaquetária induzida por colágeno.

As mordidas por espécie *Triatoma* são definitivamente doloridas e dão origem a eritema, prurido, aumento de temperatura no local da picada, edema localizado e, nos alérgicos à saliva, reações sistêmicas como náusea, vômito e angioedema. Com algumas picadas, a área da ferida será expelida, deixando uma depressão local.

As baratas d'água são percevejos que vivem mergulhados na água, dos quais pelo menos três famílias, *Belostomatidae*, *Naucordiae* e *Notonectidae*, são capazes de morder e envenenar seres humanos. A saliva de baratas d'água contém enzimas digestivas, componentes neurotóxicos e frações hemolíticas. Mordidas de baratas d'água dão origem a dor imediata, edema localizado e possível endurecimento e formação de uma pápula pequena.

Existem alguns artrópodes venenosos, e o envenenamento pode ocorrer com seu esmagamento ou sua ingestão. Incluem esse grupo, entre outros, besouros escuros ("maria-fedida", *Eleodes*) e besouros de bolha (*Epicauta*), dos quais é obtida a cantaridina.

Hymenoptera (formigas, abelhas, vespas e vespões)

Formicidae (formigas) A maioria das formigas tem ferrões, mas aquelas que não os têm podem borrifar uma secreção defensiva da ponta do gáster, o qual é sempre colocado na ferida da picada. As formigas picadoras clinicamente importantes são as cortadeiras (*Pagonomyrmex*), as formigas de fogo (*Solenopsis*) e as formigas de fogo pequenas (*Ochetomyrmex*). Formigas cortadeiras são grandes, de cor vermelha, marrom-escura ou preta, variando de tamanho de 6 a 10 mm, com franjas de pelos longos atrás da cabeça.

Venenos de formiga variam consideravelmente. Os venenos de Ponerinae, *Pseudomyrmex* e Ecitoninae têm caráter proteico. Os de Myrmecinae são misturas de aminas, enzimas e materiais proteicos, histamina, hialuronidase, fosfolipase A e hemolisinas, as quais hemolisam eritrócitos e mastócitos. O veneno de formiga Formicinae contém cerca de 60% de ácido fórmico. Venenos de formiga de fogo são pobres em polipeptídeos e proteínas, mas são ricos em alcaloides, como solenopsina. A picada de formiga de fogo origina uma sensação de queimação dolorosa, após a qual se desenvolvem uma pápula e um eritema localizado, levando, em poucas horas, a uma vesícula clara. Dentro de 12 a 24 horas, o fluido torna-se purulento, e a lesão transforma-se em pústula. Ela pode se decompor ou se tornar uma crosta ou um nódulo fibrótico. Em picadas múltiplas, podem ocorrer náusea, vômito, vertigem, aumento da transpiração, dificuldade respiratória, cianose, coma e, até mesmo, a morte.

Apidae (abelhas) As abelhas que normalmente picam são a *Apis mellifera* e a abelha africanizada, *Apis mellifer adansonii*. O veneno contém peptídeos biologicamente ativos, tais como melitina, apamina, fosfolipase A_2 (PLA_2) e B, hialuronidase, histamina, dopamina, peptídeo degranulador de mastócitos, monossacarídeos e lipídeos. Picadas de abelhas produzem, em geral, dor aguda ou em queimação imediata, eritema local leve e edema seguido de comichão. É dito que 50 picadas podem levar a disfunção respiratória, hemólise intravascular, hipertensão, dano miocárdico, alterações hepáticas, choque e falência renal. Com 100 ou mais picadas, pode ocorrer morte.

Vespidae (vespas) Essa família inclui vespas e vespões. Esses venenos contêm alto conteúdo de peptídeos, os quais incluem mastoparano, em veneno de vespas e vespões, e crabolina, em veneno de vespões. Outros peptídeos, chamados vespacininas, causam dor imediata, vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular, levando a edema. Esses venenos também contêm fosfolipases e hialurinidases, as quais contribuem para a ruptura de membranas e tecidos conectivos para facilitar a difusão do veneno.

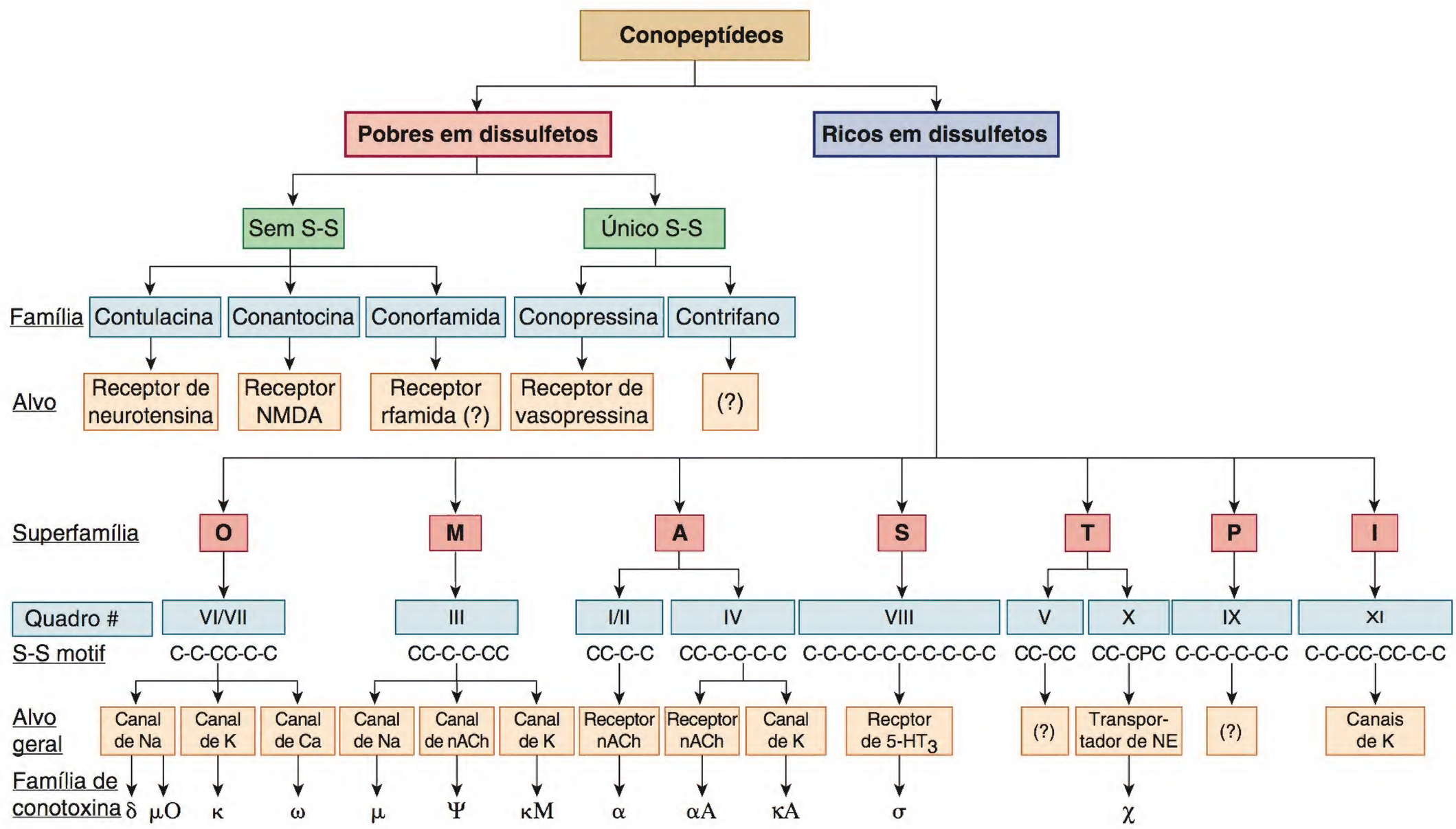


FIGURA 26.2 Diagrama organizacional para peptídeos *Conus*, indicando superfamílias de genes, padrão de dissulfeto e alvo farmacológico conhecido. Somente superfamílias de peptídeos ricos em dissulfeto são mostradas. (Utilizada com permissão de Terlau H, Oliveira BM: Conus venoms: a rich source of novel ion channel-targeted peptides. *Physiol Rev* 84:41-68, 2004.)

Lepidoptera (lagartas, mariposas e borboletas)

Os pelos, ou cerdas, urticantes de lagartas são anexados a glândulas venenosas unicelulares na base de cada pelo. O material tóxico contém ácidos aristolóquicos, cardenolídeos, histamina e proteína fibrinolítica. Depois do envenenamento, defeitos de coagulação, tais como tempos de protrombina e de tromboplastina parcial prolongados, têm sido detectados, e diminuições no fibrinogênio e no plasminogênio têm sido notadas.

Contato com Lepidopteras das espécies *Megalopygidae, Dioptidae, Automeris* e *Hermileucinae* dão origem a diátese hemorrágica. Em casos mais graves, existem dor localizada, pápulas (algumas vezes hemorrágicas) e hematomas; às vezes, também podem ocorrer cefaleia, náusea, vômito, hematúria, linfadenite e linfadenopatia.

MOLUSCOS (CARACÓIS CÔNICOS)

O gênero *Conus* é um grupo de cerca de 500 espécies de predadores carnívoros encontrados em hábitats marítimos que usam veneno como arma para captura da presa. Existem, provavelmente, mais de 100 diferentes componentes de veneno por espécie (Fig. 26.2). Esses componentes tornaram-se conhecidos como conotoxinas, as quais podem ser ricas em ligações dissulfeto e conopeptídeos. Após a injeção, os conopeptídeos agem sinergicamente para afetar a presa almejada, com frequência, resultando em inibição total da transmissão neuromuscular. Várias conotoxinas inibem canais de cálcio pré-sinápticos que controlam a liberação de neurotransmissores, receptores nicotínicos neuromusculares pós-sinápticos e canais de sódio envolvidos em potencial de ação muscular. As conotoxinas também têm como alvo canais iônicos de abertura ativada por ligante que medeiam transmissão sináptica rápida.

RÉPTEIS

Lagartos

O monstro de Gila (*Heloderma suspectum*) e os lagartos frisados (*Heloderma horridum*) são muito menos perigosos do que geralmente se acredita. Seus venenos são transferidos de uma glândula venenosa no maxilar inferior por meio de ductos que descarregam seu conteúdo próximo à base dos dentes maiores do maxilar inferior. O veneno é, então, espalhado ao longo dos sulcos dos dentes por ação capilar. O veneno desse lagarto contém serotonina, amina oxidase, fosfolipase A, substância liberadora de bradicinina, helodermina, gilatoxina e pequena atividade proteolítica, bem como alta atividade hialuronidásica. A heloterima, uma proteína de 25 kDa, parece inibir o influxo do íon cálcio do retículo sarcoplasmático. O peptídeo de 35 aminoácidos helodermina produz hipertensão por ativação de canais de potássio na musculatura lisa vascular. Os sinais clínicos da mordida de helodermatídeo podem incluir dor, edema, hipotensão, náusea, vômito, fraqueza e sudorese.

Serpentes

Entre as mais de 2.700 espécies de serpentes, cerca de 20% são consideradas peçonhentas. Serpentes venenosas pertencem primariamente às seguintes famílias: *Viperidae* (víbora), *Elapidae*, *Atractaspidae* e *Colubridae*.

Venenos de serpentes Esses venenos são misturas complexas: proteínas e peptídeos, consistindo em compostos enzimáticos e não enzimáticos, constituindo mais de 90% do peso seco do veneno. Venenos de serpentes também contêm cátions inorgânicos, como sódio, cálcio, potássio, magnésio e pequenas quantidades de zinco, ferro, cobalto, manganês e níquel. Alguns também contêm glicoproteínas, lipídeos e aminas biogênicas, tais como histamina, serotonina e neurotransmissores.

Uma classificação simplista de venenos de serpentes reuniria componentes de toxinas como neurotoxinas, substâncias coagulantes, hemorraginas, substâncias hemolíticas, miotoxinas, citotoxinas e nefrotoxinas. Neurotoxinas produzem paralisia neuromuscular variando de tonturas a ptose, oftalmoplegia, paralisia muscular facial flácida e inabilidade para deglutição, paralisia de grupos musculares grandes e, por fim, a paralisia da musculatura respiratória e asfixia. Substâncias coagulantes podem ter uma ação pró-coagulante inicial, que consome os fatores de coagulação, levando a sangramento. Substâncias coagulantes podem inibir diretamente a coagulação normal em muitos locais da cascata de coagulação ou via inibição de agregação plaquetária. Além disso, alguns componentes do veneno podem danificar o revestimento endotelial de vasos sanguíneos, levando a hemorragia. Vítimas de mordidas podem mostrar sangramento no nariz ou nas gengivas, no local da mordida, na saliva, na urina e nas fezes. Miotoxinas podem impactar diretamente a contração muscular levando a paralisia ou causar rabdomiólise ou ruptura da musculatura esquelética. Mioglobinúria, ou urina marrom-escura, e hipercalemia podem ser notadas. Agentes citotóxicos têm propriedades proteolíticas ou necróticas, levando a desagregação de tecido. Sinais típicos incluem edema maciço, dor, descoloração, bolhas, hematomas e feridas exsudativas. Sarafotoxinas, encontradas somente em víboras subterrâneas da região afro-árabe, provocam constrição da artéria coronariana, redução do fluxo sanguíneo coronariano, angina e infarto do miocárdio. Por fim, nefrotoxinas podem causar dano direto à estrutura renal, levando a sangramento, danos a várias partes do néfron, privação de oxigênio tissular e falência renal.

Enzimas Venenos de serpentes contêm, pelo menos, 26 enzimas, embora nenhum veneno contenha todas elas (Fig. 26.1). Enzimas proteolíticas, também conhecidas como peptídeos hidrolases, proteases, endopeptidases, peptidases e proteinases, catalisam a ruptura de proteínas tissulares. Enzimas proteolíticas múltiplas podem estar em um único veneno. Metais são envolvidos na atividade de certas proteases e fosfolipases.

Os venenos crotálicos examinados até agora parecem ser ricos em enzimas com atividade proteolítica. Venenos de viperídeos têm menor quantidade, enquanto os de elapídeos e de serpentes marinhas contêm pouca ou nenhuma atividade proteolítica. Venenos ricos em atividade proteinase são associados com destruição marcante de tecidos.

Atividade de colagenase, uma proteinase específica que digere colágeno, tem sido demonstrada em venenos em numerosas espécies de crotalídeos e viperídeos. O veneno de *Crotalus atrox* digere fibras de colágeno mesentérico, mas não outras proteínas.

A hialuronidase catalisa a quebra de ligações glicosídicas internas em certos mucopolissacarídeos ácidos, diminuindo, assim, a viscosidade de tecidos conectivos, permitindo, então, a penetração de outras frações de veneno nos tecidos.

A arginina éster hidrolase é encontrada em muitos venenos de crotalídeos e viperídeos e em alguns venenos de serpentes marinhas peçonhentas, mas não em de elapídeos, com uma possível exceção em *Ophiophagus hannah*. Alguns venenos crotálicos contêm, pelo menos, três argininas éster hidrolases separáveis cromatograficamente. A liberação de bradicinina e, possivelmente, a atividade coagulante da bradicinina de alguns venenos crotálicos podem estar relacionadas à atividade esterásica.

Enzimas tipo trombina são encontradas em quantidades significantes em venenos de *Crotalidae* e *Viperidae*, enquanto os de *Elapidae* e *Hydrophiidae* contêm pouca ou nenhuma. O mecanismo de formação de coágulo de fibrinogênio por enzimas tipo trombina de veneno de cobra induz a liberação preferencial de fibrinopeptídeo A (ou B); a trombina libera fibrinopeptídeos A e B. A ação proteolítica de enzimas trombina e tipo trombina de peçonhas de serpentes é comparada na Tabela 26.4 para várias espécies (ancrod, uma fração da peçonha de *Calloselasma rhodostoma*, batroxobina, de *Bothrops moojeni*, crotalase, de *Crotalus adamanteus*, gabonase, de *Bitis gabonica*, e venzima, de *Agkistrodon contortrix*).

A PLA_2, que catalisa a hidrólise dependente do Ca^{2+} da ligação de 2-acil éster produzindo ácidos graxos livres e lisofosfolipídeos, é amplamente distribuída em venenos de elapídeos, viperídeos, crotalídeos, serpentes marinhas, atractaspídeos e vários colubrídeos. A PLA_2 interage com outras toxinas no veneno, sempre resultando em reações sinérgicas. Embora PLA_2s de mamíferos sejam atóxicas, enzimas de venenos de serpente diferem grandemente em suas propriedades farmacológicas.

A fosfomonoesterase (fosfatase) é encontrada em venenos de todas as famílias de serpentes, exceto de colubrídeos. Ela tem propriedades de uma fosfohidrolase monoéster ortofosfórica. Existem duas fosfomonoesterases não específicas; muitos venenos contêm ambas as fosfatases, ácida e alcalina, enquanto outros venenos contêm uma ou outra.

A fosfodiesterase, encontrada em venenos de todas as famílias de serpentes peçonhentas, é uma fosfohidrolase diéster ortofosfórica que ataca DNA, RNA e derivados da arabinose.

Existem outras enzimas cuja contribuição toxicológica para o veneno de serpente não é compreendida. Estas incluem acetilcolinesterase, RNase, DNase, 5′-nucleotidase, nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) nucleotidase, L-aminoácido e lactato desidrogenase.

Polipeptídeos Mais de 80 polipepitídeos de venenos de serpentes são proteínas de baixo peso molecular com ações tóxicas. Erabutoxina a, erabutoxina b, alfa-cobratoxina, crotactina e crotamina são exemplos de neurotoxinas. Desintegrinas são polipeptídeos curtos ricos em cisteína que exibem afinidades por muitos receptores. As micotoxinas podem induzir espasmos e paralisia na musculatura esquelética alterando a função de canais de sódio.

TABELA 26.4 Comparação de ações enzimas trombina e tipotrombina de peçonhas de serpentes

	Ação em fibrinogênio humano				
Enzimas	**Fibrinopeptídeos liberados**	**Degradação de cadeia**	**Ativação do fator XIII**	**Quebra de fragmento de protrombina**	**Agregação e liberação de plaquetas**
Trombina	A – B	α(A)	Sim	Sim	Sim
Enzimas tipo trombina	A*	α(A)** ou β(B)***	Não	Sim ou não****	Não
Veneno de *Agkistrodon contortrix*	B	ND	Incompleta	ND	Não
Veneno de *Bitis gabonica*	A + B	ND	Sim	ND	ND

* Inclui ancrod, batroxobina, crotalase e enzimas de *T. okinavensis.*
** Ancrod (batroxobina degrada cadeia α(A) de fibrinogênio bovino, mas não de humano).
*** Crotalase
**** Fragmentos I liberados por crotalase e veneno de *Agkistrodon contortrix,* mas não por ancrod ou batroxobina.
ND = não determinado.

Toxicologia Em geral, venenos de cascavéis e de outros crotalídeos do Novo Mundo produzem alterações nas resistências (e, muitas vezes, na integridade) de vasos sanguíneos, alterações em células sanguíneas e em mecanismos de coagulação do sangue, alterações diretas ou indiretas nas dinâmicas cardíaca e pulmonar e – com crotalídeos como *C. durrissus terrificus* e *C. scutulatus* – alterações sérias no sistema nervoso e na respiração. Em humanos, o curso do envenenamento é determinado pelo tipo e pela quantidade de veneno injetado; pelo local no qual ele é depositado; pela saúde geral, pelo tamanho e pela idade do paciente e pelo tipo de tratamento. Morte em humanos pode ocorrer em menos de 1 hora ou após vários dias, com a maioria das mortes ocorrendo entre 18 e 32 horas. Hipotensão ou choque é o problema clínico mais importante nas mordeduras de crotalídeos na América do Norte.

Tratamento de mordidas de serpentes O tratamento de mordeduras de serpentes peçonhentas é tão especializado que quase todos os envenenamentos requerem recomendações específicas. Entretanto, três princípios gerais para mordedura devem ser mantidos em mente: (1) o envenenamento por serpentes peçonhentas é uma emergência médica que requer atenção imediata e exercício de julgamento considerável; (2) o veneno é uma mistura complexa de substâncias na qual as proteínas contribuem para a maioria das propriedades deletérias, e o único antídoto adequado é o uso de antiveneno específico ou poliespecífico; (3) nem toda mordedura de serpente peçonhenta resulta em envenenamento. Em quase 1.000 casos de mordidas de crotalídeos, 24% não resultam em envenenamento. A incidência com mordidas de najas e, talvez, de outros elapídeos, é, provavelmente, maior.

Evolução do veneno de serpentes Grandes esforços estão sendo feitos para examinar o processo complexo por meio do qual os componentes de venenos de serpentes possam ter mudado ao longo dos anos. Em geral, as toxinas de proteínas ancestrais, que foram construídas de redes densas de ligações cruzadas de cisteína, são consideradas, atualmente, entre as mais diversas em termos de dano toxicológico.

ANTIVENENOS

Antivenenos têm sido produzidos contra a maioria das toxinas clinicamente importantes de serpentes, aranhas, escorpiões e toxinas marinhas. Animais imunizados com venenos desenvolvem vários anticorpos para vários antígenos. O antiveneno consiste em um antissoro específico contra o veneno ou em concentrados de anticorpos de soro imunizado contra o veneno. O antissoro contém anticorpos neutralizantes: um antígeno (monoespecífico) ou vários antígenos (poliespecífico). O soro é colhido, parcial ou totalmente purificado e processado antes de ser administrado no paciente. Os anticorpos ligam-se às moléculas do veneno, tornando-as inativas.

Antivenenos estão disponíveis em muitas formas: anticorpo IgG intacto ou fragmentos de IgG, tais como $F(ab)_2$ e Fab. O peso molecular da IgG intacta é de cerca de 150 mil, enquanto o do Fab é de, aproximadamente, 50 mil. A IgG tem um volume de distribuição muito menor que o do Fab e é muito grande para excreção renal. A meia-vida de eliminação da IgG é em torno de 50 horas. Seu destino final não é conhecido, mas a maioria da IgG é, provavelmente, retida pelo sistema reticuloendotelial e degradada junto com o antígeno ligado. Fragmentos Fab têm uma meia-vida de eliminação de cerca de 17 horas e sofrem excreção renal.

Todos os produtos antivenenos são produzidos por meio da imunização de animais, o que aumenta a possibilidade de hipersensibilidade. Os riscos de anafilaxia devem sempre ser considerados quando da decisão de se administrar o antiveneno.

REFERÊNCIAS

Dart RC (ed): *Medical Toxicology*, 3rd ed. Philadelphia: Lippincott, 2004.
Dias JH: *Color Atlas of Human Poisoning and Envenoming*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2006.
Meier J, White J: *Handbook of Clinical Toxicology of Animal Venoms and Poisons*. Boca Raton, FL: CRC Press, 1995.
Menez A (ed): *Perspectives in Molecular Toxicology*. New York: Wiley, 2002.
Russell FE, Nagabhushanam R: *The Venomous and Poisonous Marine Invertebrates of the Indian Ocean. Enfield*, NH: Science Publications, 1996.

QUESTÕES

1. Qual das seguintes afirmações relativas às toxinas animais é FALSA?
   a. Venenos animais são estritamente metabolizados pelo fígado.
   b. Os rins são responsáveis pela excreção de venenos metabolizados.
   c. Venenos podem ser absorvidos por difusão facilitada.
   d. A maioria das frações dos venenos distribui-se desigualmente no organismo.
   e. Sítios receptores de veneno exibem graus altamente variáveis de sensibilidade.

2. Venenos de escorpião NÃO:
   a. Afetam canais de potássio.
   b. Afetam canais de sódio.
   c. Afetam canais de cloreto.
   d. Afetam canais de cálcio.
   e. Afetam a despolarização inicial do potencial de ação.

3. Qual das seguintes afirmações relativas à aranha viúva é VERDADEIRA?
   a. Aranhas viúvas são exclusivamente encontradas em regiões tropicais.
   b. Ambas aranhas viúvas, macho e fêmea, mordem e envenenam humanos.
   c. A toxina da aranha viúva diminui a concentração de cálcio no terminal sináptico.
   d. A alfa-latrotoxina estimula aumento da exocitose dos terminais nervosos.
   e. O envenenamento grave por alfa-latrotoxina pode resultar em hipotensão com risco de vida.

4. Qual das seguintes doenças não costuma ser causada por envenenamento por carrapato?
   a. Febre maculosa da Montanha Rochosa
   b. Doença de Lyme
   c. Febre Q
   d. Erliquiose
   e. Febre da arranhadura de gato

5. Qual das seguintes características NÃO é de envenenamento por Lepidoptera?
   a. Aumento do tempo de protrombina
   b. Diminuição dos níveis de fibrinogênio
   c. Diminuição do tempo parcial de tromboplastina
   d. Aumento do risco de hemorragia
   e. Diminuição dos níveis de plasminogênio

6. Qual espécie dos seguintes animais produz um veneno que contém 60% de ácido fórmico?
   a. Serpentes
   b. Lagartos
   c. Formigas
   d. Aranhas
   e. Escorpiões

7. Qual espécie dos seguintes animais tem um veneno que contém histamina e peptídeo degranulador de mastócito, que é conhecido por causar reação de hipersensibilidade?
   a. Abelhas
   b. Formigas
   c. Serpentes
   d. Aranhas
   e. Reduvídeos

8. Qual das seguintes enzimas não costuma ser encontrada em venenos de serpentes?
   a. Hialuronidase
   b. Lactato desidrogenase
   c. Colagenase
   d. Fosfodiesterase
   e. Histaminase

9. Qual das seguintes afirmações relativas a serpentes é FALSA?
   a. Ânions inorgânicos são frequentemente encontrados em venenos de serpentes.
   b. Cerca de 20% das espécies de serpentes são peçonhentas.
   c. Venenos de serpentes frequentemente interferem nos mecanismos de coagulação sanguínea.
   d. Enzimas proteolíticas são constituintes comuns de venenos de serpentes.
   e. O tratamento de mordida de serpentes é, com frequência, específico para cada tipo de envenenamento.

10. A produção de antivenenos requer anticorpos neutralizantes de qual tipo?
   a. IgA
   b. IgG
   c. IgM
   d. IgE
   e. IgD

CAPÍTULO

27

Efeitos Tóxicos de Plantas, Fungos e Algas

Stata Norton

INTRODUÇÃO

EFEITOS TÓXICOS POR ÓRGÃO

Pele
- Dermatite de contato
- Dermatite alérgica
- Fotossensibilidade

Sistema respiratório
- Rinite alérgica
- Reflexo da tosse
- Morte celular

Sistema digestório
- Efeitos irritantes diretos
- Efeitos antimitóticos
- Inibição de síntese proteica

Sistema cardiovascular
- Glicosídeos cardioativos
- Ação nos nervos cardíacos
- Substâncias vasoativas

Fígado
- Danos nos hepatócitos
- Toxinas de cogumelos
- Micotoxinas
- Toxicidade do lantadeno

Rins e bexiga
- Carcinogênicos químicos
- Degeneração tubular renal

Sistema sanguíneo e medula óssea
- Anticoagulantes
- Genotoxicidade de medula óssea
- Cianógenos

Sistema nervoso
- Convulsões epileptiformes
- Aminoácidos excitatórios
- Desmielinação de neurônios motores
- Neurônios cerebelares
- Estímulo parassimpático
- Bloqueio parassimpático
- Bloqueio dos neurônios sensoriais

Músculo esquelético e junção neuromuscular
- Bloqueio da junção neuromuscular
- Danos ao músculo esquelético

Calcificação de tecidos e ossos
- Ossos e tecidos moles

Sistema reprodutivo e teratogênese
- Substâncias abortivas
- Substâncias teratogênicas

PONTOS-CHAVE

- Diferentes partes da planta (raiz, caule, folhas e sementes) frequentemente contêm diferentes concentrações de substâncias.
- A idade da planta contribui para a variabilidade. Plantas jovens podem conter mais ou menos dos mesmos constituintes que plantas maduras.
- Clima e solo influenciam na síntese de algumas substâncias.
- As plantas contêm substâncias que podem provocar efeitos tóxicos na pele, nos pulmões, no sistema cardiovascular, no fígado, nos rins, na bexiga, no sangue, nos sistemas nervosos central e periférico, nos ossos e no sistema reprodutivo.
- Dermatite de contato e fotossensibilidade são reações cutâneas comuns a muitas plantas.
- Efeitos gastrintestinais variam de irritação local a êmese e/ou diarreia.
- Glicosídeos cardiotóxicos nas folhas ou sementes de muitas plantas causam náuseas, vômitos e arritmias cardíacas em animais e seres humanos.

INTRODUÇÃO

Das inúmeras espécies de plantas que contêm substâncias tóxicas, apenas algumas estão descritas neste capítulo. A seleção baseou-se em três considerações principais: frequência em que ocorre a exposição, importância e gravidade do efeito tóxico e compreensão científica da natureza da ação do toxicante.

Os efeitos tóxicos de uma mesma espécie de planta podem variar de acordo com as diferenças nos níveis de produção dos toxicantes pelas plantas. As razões da variabilidade na concentração das substâncias tóxicas são diversas:

1. Diferentes partes da planta (raiz, caule, folhas e sementes) frequentemente contêm diferentes concentrações de uma determinada substância.
2. A idade da planta contribui para a variação. Plantas jovens podem conter mais ou menos dos mesmos elementos que a planta madura.
3. O clima e o solo influenciam na síntese de algumas substâncias.
4. Diferenças genéticas de uma mesma espécie podem alterar a capacidade de determinadas plantas de sintetizar uma substância. A síntese de substâncias tóxicas relacionadas é frequentemente encontrada em espécies com taxonomia similar como uma característica de gênero e, às vezes, como uma característica de família.

EFEITOS TÓXICOS POR ÓRGÃO

Pele

Dermatite de contato Muitas plantas comuns em regiões temperadas de todo o mundo contêm compostos que produzem irritação após contato com a planta intacta. Várias espécies de *Ranunculus* (ranúnculo) causam dermatite de contato. Essas plantas contêm ranunculina, que libera protoanemonina tóxica, também presente na *Anemone*, outro gênero da família das ranúnculas. A protoanemonina é rapidamente convertida em anemonina, que apresenta propriedades irritantes acentuadas. A ingestão de plantas contendo protoanemonina pode resultar em grave irritação do sistema digestório.

O contato dos olhos ou da língua com a seiva da planta *Dieffenbachia* resulta em dor e rápido desenvolvimento de edema e inflamação, que poderá durar de dias a semanas. A toxicidade deve-se a: (1) liberação de uma substância química similar à histamina ou à serotonina que pode estar envolvida na dor imediata e (2) liberação de ráfides, cristais similares a agulhas, longos e finos de oxalato de cálcio irritante e que são recobertos de uma proteína inflamatória similar à tripsina. Esses ráfides são oriundos de células ejetoras com forma de ampulheta e estão presentes em toda a superfície da folha.

O contato com os tricomas da espécie de *Urtica* (urtiga) causa dor e eritema após penetração na pele. No caso das urtigas, *Urtica urens* e *Urtica dioica* (família Urticaceae), os tricomas que recobrem as folhas e os caules consistem em tubos finos com bulbos na extremidade que se rompem na pele e liberam um fluido que contém histamina, acetilcolina e serotonina, causando uma resposta aguda.

Dermatite alérgica A maioria das pessoas está familiarizada com a dermatite alérgica produzida por plantas como a hera venenosa. Ambas as espécies, *Philodendron* (família Araceae, família Arum) e *Rhus* (Anacardiaceae, família do caju), causam dermatite de contato alérgica. A *Philodendron scandens* é uma planta ornamental comum, e a *Rhus radicans* (hera venenosa) é nativa da América do Norte. Além da hera venenosa, o grupo toxicodendron contém a *Rhus diversiloba* (carvalho venenoso) e a *Rhus vernix* (sumagre venenoso). Os ingredientes ativos na *P. scandens* são resorcinóis. Na *R. radicans*, o componente alergênico é uma mistura de catecóis chamada de urushiol. A dermatite alérgica também se desenvolve por meio de exposições repetidas ao sumo da manga, porque a casca da fruta contém oleorresinas que provocam uma reação cruzada com alergênicos de hera venenosa.

Pessoas que cultivam flores ou que manuseiam bulbos, cortam flores de narcisos, jacintos e tulipas, às vezes, desenvolvem dermatites a partir do contato com o sumo. As irritações estão associadas aos alcaloides lazonina, licorina e outros ou então aos cristais longos e finos de oxalato de cálcio presentes no bulbo. A tupalina-A, um alcaloide que causa o que se chama de "dedo de tulipa", apresenta propriedades alergênicas.

O principal alergênico no látex da borracha natural da seringueira, *Hevea brasiliensis*, é a heveína, um polipeptídeo de li-

gação à quitina. Indivíduos sensíveis à borracha do látex podem ser sensibilizados ao contato com diversas frutas que contenham quitinase, como banana, quivi, tomate e abacate.

O pólen dos vários gêneros da família Asteraceae (p. ex., *Atemisia vulgaris*, na Europa, e *Ambrosia artemisiifolia*, na América do Norte) contém alergênicos que causam a rinite de verão. Anticorpos de imunoglobulina produzidos por indivíduos sensíveis desencadeiam uma reação cruzada com o pólen da artemísia e da capineira. O alergênico dessa reação cruzada é uma proteína de 14-kDa altamente conservada, a profilina.

Fotossensibilidade A intoxicação de gado a partir do contato com *Hypericum perforatum* (erva-de-são-joão) causa o desenvolvimento de lesões edematosas na pele especialmente nas regiões que não são bem cobertas por pelos, como é o caso das orelhas, do nariz e dos olhos. O princípio tóxico, hipericina, causa fotossensibilidade, e as lesões aparecem após a exposição solar. A fotossensibilidade em humanos é um evento raro que pode ocorrer após a exposição à erva-de-são-joão.

Sistema respiratório

Rinite alérgica A rinite causada pela inalação de pólen de plantas, também conhecida como "febre do feno" ou polinose, é um problema sazonal para muitos indivíduos.

Reflexo da tosse Trabalhadores que manuseiam *Capsicum annum* (pimenta caiena) e *Capsicum frutescens* (pimenta chili) têm maior incidência de tosse durante o dia. Os principais elementos irritantes no *Capsicum* são a capsaicina e a dihidrocapsaicina. As terminações nervosas sensíveis da capsaicina nas vias aéreas estão associadas à irritação e à tosse. As terminações sensoriais da fibra C fazem parte do reflexo da tosse, e o principal neurotransmissor nessas fibras, o neuropeptídeo P, sofre depleção pela capsaicina. Esta ativa um subtipo de receptor vaniloide encontrado nas vias aéreas, na coluna vertebral, nos gânglios da raiz dorsal, na bexiga, na uretra e no colo. As pessoas que manuseiam esse tipo de pimenta podem apresentar irritação e vesicação.

Morte celular Ratos de laboratório são altamente suscetíveis à monocrotalina das sementes da *Crotalaria spectabilis*, também conhecida como crotalária, da família dos legumes, e desenvolverem uma condição similar à hipertensão pulmonar. A monocrotalina é convertida no fígado desses ratos em um metabólito pirrolítico ativo responsável pelas lesões cardiopulmonares. A apoptose das células endoteliais arteriais pode estar associada logo no início a hipertensão pulmonar. A monocrotalina provoca hepatite como toxicidade primária na maioria das espécies.

Sistema digestório

Efeitos irritantes diretos O resultado mais comum de ingestão de uma planta tóxica são os distúrbios gastrintestinais (náuseas, vômito e diarreia) causados pela irritação do intestino. Diversos tipos de substâncias químicas são responsáveis por esses efeitos; algumas até encontraram lugar na medicina como purgantes, como é o caso da cáscara sagrada. A cáscara é obtida da casca da *Rhamnus purshiana*. O princípio ativo é a emodina.

A noz de Tung (*Aleurites fordii*) é uma planta que cresce em todo o mundo. A semente, da qual pode se extrair um óleo de utilidade comercial, é a parte com maior toxicidade. A ingestão de castanhas ou sementes maduras causa dor abdominal, vômito e diarreia. Surtos de intoxicação aguda são muito comuns em crianças.

A vagem de ervilha, ou feijão dourado (*Thermopsis rhombifolia*), é um legume que cresce de maneira selvagem no lado ocidental dos Estados Unidos. Já foram relatados muitos casos de morte de gado devido ao consumo da planta madura com suas sementes. Crianças desenvolvem náuseas, vômitos, tontura e dores abdominais em virtude da ingestão dos grãos. As substâncias com atividade tóxica nessa planta são os alcaloides quinolizidínicos.

A *Aesculus hippocastanum* (castanha-da-índia) e a *Aesculus glabra* são árvores comuns com panículas de flores muito atraentes na primavera. As castanhas dessas árvores contêm um glicosídeo chamado esculina. Quando ingerido por humanos, o principal efeito é a gastrenterite. A esculina é pouco absorvida pelo sistema digestório de humanos. No gado, o glicosídeo pode ser hidrolizado no rume, liberando a aglicona, que causa efeitos sistêmicos como, por exemplo, marcha com as pernas duras (andar do gado) e, em intoxicações graves, convulsões tônicas com opistótono.

Efeitos antimitóticos A *Podophyllum peltatum* contém a podofilotoxina, um purgativo tóxico, especialmente em folhagens e raízes. Em baixas doses, ocorre um efeito purgativo leve. A superdosagem resulta em náuseas e vômitos paroximais graves. A podofilotoxina inibe a mitose ao unir-se aos microtúbulos.

A colchicina é um agente antimitótico que bloqueia a formação dos microtúbulos, causando subsequente falha no fuso mitótico. É o principal alcaloide nos bulbos de *Colchicum autumnale* (açafrão da família dos lírios). A ingestão dos bulbos é seguida de gastrenterite grave (náusea, vômito, diarreia e desidratação). Efeitos sistêmicos podem se desenvolver, incluindo confusão, *delirium*, hematúria, neuropatia, aplasia de medula óssea e insuficiência renal. Efeitos tóxicos adicionais podem ocorrer devido às lectinas encontradas na planta. Essas lectinas são potentes indutores de uma gelatinase dos leucócitos mononucleares. Altos níveis circulantes de gelatinase foram comprovadamente encontrados em casos de choque circulatório.

Inibição da síntese proteica As sementes de *Wisteria floribunda* (família das leguminosas) contêm uma lectina que apresenta afinidade pela *N*-acetilglicosamina em neurônios de mamíferos. O consumo de algumas sementes pode resultar em cefaleia, náusea e diarreia em poucas horas, seguidas de tontura, confusão e hematêmese.

A *Ricinus communis* (mamona) é um membro da família Euphorbiaceae. Se as sementes forem ingeridas, adultos e crianças não apresentam sintomas claros de intoxicação durante vários dias. Perda de apetite, náusea, vômito e diarreia desenvolvem-se gradativamente. Depois, a gastrenterite torna-se grave, com vômitos persistentes, diarreia sanguinolenta, desidratação e icterícia, nos casos fatais. A morte pode ocorrer entre 6 e 8 dias. A dose fatal para uma criança pode ser de 5 a 6 sementes, e para um adulto, cerca de 20 sementes. O índice de fatalidade é baixo

nas pessoas que ingerem essas sementes – menos de 10% quando consumida uma dose "fatal"– porque a proteína tóxica é amplamente inativada no intestino. A morte devido à ingestão de mamona decorre da ação de duas lectinas, a ricina I e a ricina II, que inibem a síntese de proteínas. Lectinas tóxicas similares são encontradas nas sementes de *Abrus precatorius* (jequiriti ou jequiritina). A abrina-a, uma das quatro isoabrinas, é o inibidor mais potente de síntese proteica.

Lectinas do tipo ricina, com cadeias tanto A quanto B, são potencialmente fatais se passarem, mesmo que em pequenas quantidades, pelo sistema digestório. Plantas que produzem apenas a cadeia A oferecem muito menos risco quando ingeridas. Ramos jovens de *Phytolacca americana* são, muitas vezes, usados na primavera como ingrediente de salada verde. As folhas e os frutos maduros podem causar irritação gastrintestinal, náusea e diarreia. A planta produz três isoenzimas de lectinas de cadeia única (PAP, PAPII e PAP-S) que podem inibir a síntese de proteína na célula por meio da inativação do rRNA. Proteínas inibidoras de ribossoma de cadeia única não entram nas células intactas prontamente, mas se a membrana da célula tiver sido rompida por um vírus, elas podem penetrar nela. As lectinas que se unem fortemente ao revestimento da célula do intestino delgado e estão endocitadas por ele podem ser nutricionalmente tóxicas se forem consumidas por um longo período de tempo. De maneira experimental, a redução em ganho de peso também foi observada na presença de grandes quantidades de algumas lectinas na dieta. Relatou-se uma correlação entre a intensidade dessa ligação com a borda estriada do jejuno e sua eficácia como um antinutriente.

Sistema cardiovascular

Glicosídeos cardioativos As plantas que contêm glicosídeos cardioativos incluem as espécies *Digitalis purpurea* (dedaleira), que contém digitális, *Scilla maritima*, contendo escilarena, *Convallaria majalis* (lírio de maio), que contém convalatoxina nos bulbos, *Asclepias species* (oficial-de-sala) contendo *6´-O-(E*-4-hidroxicinamoil) desglucorazina, *Nereum oleander* (espirradeira), contendo oleandrina e nerium, e *Thevetia peruviana* (chapéu-de-napoleão), que contém tevetina A. Animais e humanos que venham a ingerir as folhas ou as sementes dessas plantas apresentam náuseas, vômito e arritmias cardíacas.

Ação nos nervos cardíacos *Veratrum viride* (família dos lírios), *Veratrum album* e *Veratrum californicum* apresentam alcaloides similares, que incluem a protoveratrina, a veratramina e a jervina. Após sua ingestão, os alcaloides causam náusea, êmese, hipotensão, bradicardia e, às vezes, espasmo muscular. Arritmias cardíadas são comuns em exposições acentuadas. Várias espécies de *Zigadenus*, incluindo *Zigadenus nuttallii*, contêm alcaloides similares aos do *Veratrum*. Essas plantas crescem por toda a América do Norte, e os bulbos brancos podem ser confundidos com cebola selvagem. Todas as partes da planta são tóxicas.

Espécies de *Aconitum* têm sido usadas como medicamento tanto no Ocidente como no Oriente há séculos. A planta europeia *Aconitum napellus* (acônito, capuz-de-padre, família Ranunculaceae) é uma planta perene geralmente encontrada em jardins devido às suas flores azuis ornamentais. As raízes da *Aconitum kusnezoffii* e *Aconitum carmichaeli* encontram-se descritas nos livros de Materia Medica Chinesa. Intoxicações podem ocorrer em virtude da ingestão intencional ou acidental, e a concentração dos alcaloides – aconitina, mesaconitina e hipoaconitina – varia de acordo com as espécies, o lugar de origem, a época da colheita e os procedimentos no processamento. Os alcaloides causam uma corrente de sódio mais prolongada no músculo cardíaco e nas fibras nervosas com uma repolarização mais lenta. Hipotensão, desconforto gastrintestinal, dormência na boca e parestesia nas extremidades também são sintomas que podem ser observados.

Graianotoxinas são produzidas exclusivamente por vários gêneros de Ericaceae (azaleias). Elas têm sido isoladas de *Rhododendron ponticum* e *Kalmia angustifolia*. A graianotoxina está presente por toda a planta, incluindo folhas, flores, pólen e néctar. A toxina chega até o mel por meio do néctar das flores coletado pelas abelhas. Intoxicações devido ao consumo de folhas ou de mel contaminado produzem uma síndrome que consiste em bradicardia intensa, hipotensão, parestesia oral, fraqueza e desconforto gatrintestinal. Nos casos graves de intoxicação, há depressão respiratória e perda da consciência. A graianotoxina I (acetilandromedol) diminui tanto a abertura como o fechamento dos canais de sódio nos nervos.

Substâncias vasoativas O visco é uma planta parasitária tóxica encontrada em árvores. O visco americano, *Phoradendron tomentosum*, é um membro da mesma família do visco europeu (*Viscum album*, família das Loranthaceae). Viscotoxinas são polipeptídeos básicos que produzem hipotensão, bradicardia, efeitos inotrópicos negativos no músculo cardíaco e vasoconstrição dos vasos da pele e do músculo esquelético. Intoxicações graves por essas plantas são raras e incluem distúrbios gastrintestinais e hipotensão.

A vasoconstrição é o principal efeito tóxico do *Claviceps purpurea* (ergot, esporão do centeio), um fungo parasita de grãos de centeio. O principal efeito tóxico dos alcaloides do esporão é a vasoconstrição, principalmente nas extremidades, seguida de gangrena. O aborto em mulheres grávidas é comum após a ingestão de farinha de centeio contaminada. Os alcaloides ergotamina e ergonovina têm sido usados de maneira terapêutica.

O fungo *Acremonium coenophialum* cresce simbioticamente na forragem da festuca (*Festuca arundinacea*) e produz alguns alcaloides do Ergot e derivados do ácido lisérgico. O fungo causa "toxicose da festuca" em gado que pasta em áreas de plantas infectadas. A doença no gado inclui redução no ganho de peso, redução no desempenho reprodutivo e vasoconstrição periférica. No sudoeste dos Estados Unidos, a *Stirpa robusta* também é infectada com um fungo *Acremonium*. Os cavalos que pastam em áreas onde esse tipo de forragem perene está infectada ficam mais sonolentos, possivelmente como resultado da ingestão de amida do ácido lisérgico, ergonovina e outros alcaloides associados produzidos pelos fungos.

Fígado

Dano nos hepatócitos *Senecio* (cravo-do-campo da família Aster), *Echium*, *Cynoglossum*, *Heliotropium* e *Symphytum* apresentam espécies que contêm alcaloides pirrolizidínicos responsáveis pela doença venoclusiva hepática. Espécies de animais suscetíveis aos alcaloides pirrolizidínicos são ratos, gado, cavalo e galinha, enquanto porquinhos-da-índia, coelhos, ratos do deser-

to, *hamsters*, ovelhas e codornas japonesas são resistentes. Danos aos hepatócitos podem ocorrer devido à formação microssomal de metabólitos do pirrol, com ligação cruzada de fitas de DNA pelos metabólitos. Similar à cirrose e a alguns tumores hepáticos, a condição clínica dessa doença pode ser descrita como síndrome de Budd-Chiari, com hipertensão portal e obliteração das veias hepáticas pequenas.

Toxinas de cogumelos Muitos dos cogumelos não comestíveis podem causar distúrbios gastrintestinais, mas a maioria não apresenta risco à vida. A maioria dos óbitos que ocorrem a partir da intoxicação por cogumelos em todo o mundo é relacionada aos danos hepáticos após o consumo de *Amanita phalloides, Galerina* e *Lepitoa*. O *Amanita ocreata* é igualmente perigososo. O *A. phalloides* contém dois tipos de substâncias tóxicas: faloidina e amatoxina. A faloidina é um heptapeptídeo cíclico que se combina com a actina nas células musculares de forma a interferir na função muscular, o que contribui, em parte, para a diarreia que se desenvolve entre 10 e 12 horas após sua ingestão. As amatoxinas, prontamente absorvidas, são peptídeos bicíclicos, e a maioria das α-amanitinas tóxicas também apresenta uma forte afinidade pelos hepatócitos na posição em que as amatoxinas se ligam à RNA polimerase II, inibindo, dessa forma, a síntese proteica. Sintomas graves começam a aparecer após o 3º dia decorrente da ingestão. O tratamento, nesse caso, pode exigir transplante de fígado. Lesões tubulares proximais renais podem ser encontradas em casos graves de intoxicação por Amanita.

Micotoxinas Diversos fungos presentes durante a colheita ou o armazenamento subsequente dos alimentos geram toxinas. As mais significativas são as aflatoxinas da espécie *Aspergillus* encontradas em grãos armazenados, a ocratoxina A, um imunossupressor produzido pelo *Aspergillus* e *Penicillium*, e a zearalenona, uma micotoxina produzida pelas espécies *Fusarium* e *Gibberella*.

Fumonisinas são toxinas produzidas pelo fungo *Fusarium*, principalmente pelo *Fusarium moniliforme* e *Fusarium proliferatum*, que se desenvolvem no milho. Quando cavalos ingerem milho contaminado com o fungo *Fusarium*, podem apresentar o que se chama de "intoxicação por milho mofado", ou leucoencefalomalácia equina. Os sintomas nos cavalos afetados são letargia, ataxia, convulsões e morte. As fumonisinas são estruturalmente similares à esfingosina, e sua toxicidade está relacionada ao bloqueio da biossíntese de esfingolipídeo.

Toxicidade do lantadeno A *Lantana camara* (da família Verbenaceae) foi descrita como uma das dez ervas mais prejudiciais no mundo. Gado, coelho e porquinhos-da-índia desenvolvem hiperbilirrubinemia e colestase. O lantadeno A é um triterpenoide que induz hepatotoxicidade.

Rins e bexiga

Carcinogênicos químicos A samambaia (*Pteridium aquilinum*) cresce em todo o mundo e é a única planta aérea que sabidamente causa neoplasias epiteliais e mesenquimais na bexiga de animais sob condições naturais de alimentação. O carcinogênico ptaquilosídeo alquila adeninas e guaninas do DNA. O consumo de brotos jovens de samambaia por humanos pode aumentar a incidência de câncer de esôfago e estômago.

Degeneração tubular renal Espécies de *Xanthium* (da família Aster) induzem toxicose na pecuária (porcos, ovelhas, bovinos, cavalos e aves) em pastos onde há trevos de duas ou quatro folhas. Os sintomas são depressão e dispneia. Os achados patológicos incluem necrose tubular renal e necrose centrolobular hepática. O princípio ativo é o carboxiatractilosídeo, que causa hemorragia microvascular em diversos órgãos.

Insuficiência renal aguda causa morte na intoxicação por espécies de *Cortinarius* no caso de fungos silvestres especialmente encontrados em florestas coníferas do Hemisfério Norte. As espécies variam muito em termos de hábitat e comestibilidade. A biópsia renal de pacientes contaminados mostra lesão tubular degenerativa aguda com fibrose intersticial inflamatória.

Sistema sanguíneo e medula óssea

Anticoagulantes Infecções fúngicas no caso da silagem de trevo-doce (*Melilotus alba*) e do feno já causaram toxicidade grave e morte em gado. As mortes devem-se à hemorragia causada pelo dicumarol, um metabólito fúngico que causa deficiência de protrombina.

Genotoxicidade de medula óssea Algumas espécies de papoula, tais como a *Argemone* (Papaveraceae), produzem sanguinarina, um alcaloide benzofenantridina que intercala DNA. Humanos podem estar expostos ao óleo de argemona como uma substância adulterante do óleo de mostarda. Uma única dose, mesmo baixa, pode aumentar, conforme foi demonstrado, as aberrações cromossômicas nas células de medula óssea em camundongos.

Cianógenos Cianógenos são elementos de formação de diversos tipos de plantas. A amigdalina está presente nas sementes de maçã, cereja e pêssego e na amêndoa amarga, *Prunus amygdalus*, var. *amara*, mas não em sementes de amêndoa doce, a castanha usada em alimentos. No estômago, a amigdalina libera ácido cianídrico, que se combina com o íon ferro da metemoglobina ou da citocromo oxidase. A ingestão de diversas sementes de amêndoa amarga causa intoxicação clássica por cianeto e asfixia.

A mandioca é um alimento rico em amido da *Manihot esculenta* (família Euphorbiaceae) que contém linamarina, um glicosídeo cianogênico. O processamento da raiz para consumo humano remove os cianógenos. Se o processamento local for inadequado, a ingestão crônica de linamarina da mandioca pode causar konzo, uma forma de mielopatia tropical com início súbito de paralisia espástica. A degeneração da via motora cortico-espinal pode ser causada pela produção de tiocianato a partir da linamarina e também pelo estímulo dos receptores neuronais do glutamato provocado pelo tiocianato.

Sistema nervoso

Alguns dos fármacos mais úteis são substâncias químicas de origem vegetal que agem no sistema nervoso. No entanto, algumas síndromes neurotóxicas graves não intencionais podem ser causadas pela ingestão de certas plantas. Danos permanentes no sistema nervoso são uma séria consequência de estímulo neuronal excessivo.

Convulsões epileptiformes Os tubérculos carnudos da *Cicuta maculata* (cicuta) podem causar uma intoxicação fatal, caracterizada por convulsões tônico-clônicas. O princípio tóxico, cicutoxina, liga-se aos canais de cloro mediados pelo GABA.

Diversos membros da família das mentas (Labiatae), tais como peniroial (*Hedeoma*), *Salvia* e hissopo (Hyssopus), contêm monoterpenos, os quais, em altas doses, podem causar convulsões tônico-clônicas.

Aminoácidos excitatórios Os aminoácidos excitatórios (AEs) das plantas podem agir em um ou mais subtipos de receptores de glutamato, e a estimulação excessiva pode resultar em morte dos neurônios. O ácido de caínico está presente em algas marinhas vermelhas *Digenia simplex*. Sob determinadas condições climáticas, as algas reproduzem-se rapidamente, provocando a "maré vermelha". Moluscos (mexilhões) alimentam-se das algas, e humanos podem ser contaminados ao ingerir os mexilhões. A alga verde *Chondria aranta* produz ácido domoico, um aminoácido tricarboxílico, que também é produzido pelo diátomo marinho *Nitzchia pungens*. O consumo de mexilhões contendo ácido domoico produz distúrbios gastrintestinais, cefaleia, hemiparesia, confusão e convulsões. Os efeitos prolongados causam *déficit* de memória graves e neuropatia sensório-motora.

Os fungos *Amanita muscaria* e *Amanita pantherina* contêm AEs, ácido ibotênico e, possivelmente, seu derivado, o muscinol. Os efeitos são um tanto variáveis: depressão do sistema nervoso central, ataxia, histeria e alucinações. Contrações mioclônicas e convulsões também se desenvolvem algumas vezes.

Os AEs também são encontrados na floração de algumas plantas. A família das ervilhas (Leguminosae) contém várias espécies que produzem AEs em sementes. Willardiina, isolada de *Acacia willardiana*, *Acacia lemmoni*, *Acacia millefolia* e *Mimosa asperata*, age como agonista nos receptores específicos do glutamato. As sementes de *Lathyrus sylvestris* contêm o ácido 2,4-diaminobutírico e β-*N*-oxalilamino-L-alanina, que induzem uma condição neurológica aguda em ovelhas, começando com fraqueza e progredindo até tremores e prostração, bem como convulsões. A intoxicação crônica com sementes de *Lethyrus sativus* induz o latirismo. Os indivíduos afetados apresentam degeneração dos neurônios motores corticoespinais com grave fraqueza dos músculos espásticos e atrofia, mas pouco comprometimento sensorial.

Desmielinação de neurônios motores As antracenonas são encontradas nas sementes de *Karwinskia humboldtiana*, da família das Rhamnaceae. Em intoxicação humana e de gado, a síndrome clínica que se desenvolve após uma latência de diversos dias tem como característica uma paralisia flácida crescente, começando com uma desmielinização dos grandes neurônios motores na parte inferior das pernas, levando a uma paralisia bulbar fatal.

Neurônios cerebelares A swainsonina, um alcaloide indolizidínico encontrado em *Swainsonia canescens*, *Astragalus lentiginosus* (astrágalo) e *Oxytropis sericea*, causa comportamentos aberrantes com hiperexcitabilidade e dificuldade de locomoção. A swainsonina inibe a α-manosidase lisossômica e citossômica hepática, assim como a manosidase II do complexo de Golgi, causando glicoproteínas cerebrais anormais e acúmulo de oligossacarídeos ricos em manose.

Estímulo parassimpático Alguns cogumelos do gênero *Inocybe*, *Clitocybe* e *Omphalatus* contêm quantidades significativas de muscarina, e o consumo dessas espécies tóxicas causa diarreia, sudorese, salivação e lacrimejamento, sintomas todos associados ao estímulo de receptores parassimpáticos.

Bloqueio parassimpático Os alcaloides da beladona (L-hiosciamina, atropina, D,L-hiosciamina e escopolamina), presentes em diversos gêneros de plantas da família Solanaceae, são mais conhecidos pelo seu bloqueio de receptores muscarínicos. Outras plantas que contêm anticolinérgicos incluem *Datura stramonium* – escopolamina; *Hyoscyamus niger* – L-hiosciamina; *Atropa belladonna* (beladona) – atropina; *Duboisia myoporoides* – L-hiosciamina. Doses moderadas induzem o bloqueio muscarínico, que se apresenta com taquicardia, xerostomia, pupilas dilatadas e diminuição da motilidade gastrintestinal. Altas doses afetam o sistema nervoso central, causando confusão, comportamento bizarro, alucinações e amnésia subsequente. Os óbitos são raros, embora a recuperação possa levar vários dias.

As sementes de cor laranja-avermelhada brilhante da *Solanum dulcamara* contêm solanina, um glicoalcaloide responsável pela toxicidade aguda, incluindo taquicardia, midríase, pele seca e quente, como na intoxicação por atropina.

Bloqueio dos neurônios sensoriais A capsaicina encontrada em espécies de *Capsicum* (*C. annuum*, pimenta-doce, e *C. frutescens*, pimenta-malagueta, Solanaceae) produz uma sensação de queimação nas terminações sensoriais VR1, mas também dessensibiliza o receptor vaniloide potencial transiente (TRPV1) dos nociceptores das terminações sensoriais da fibra C. Esse efeito de bloqueio neuronal sensorial de longo prazo tem uso terapêutico em casos de dores crônicas.

Músculo esquelético e junção neuromuscular

Bloqueio da junção neuromuscular O bloqueio da junção neuromuscular do músculo esquelético pode resultar de um bloqueio dos receptores pós-sinápticos de acetilcolina (nicotínicos), seja por antagonistas ou por agonistas, causando estimulação excessiva do receptor seguida de despolarização prolongada. A nicotina, que dá nome ao seu receptor, estimula os gânglios autonômicos e a junção neuromuscular. Um isômero da nicotina, a anabasina ($C_{10}H_{14}N_2$), presente na *Nicotiana glauca* (charuto-do-rei), produz uma despolarização prolongada da junção. O consumo das folhas da planta causa fraqueza muscular generalizada e grave comprometimento do sistema respiratório, seguido de espasmo do músculo flexor e irritação gastrintestinal. O curare, um veneno usado em flechas na América do Sul, é um agente de bloqueio neuromuscular muito potente, que afeta os músculos esqueléticos e mata por interromper a respiração. A paralisia deve-se ao bloqueio dos receptores de acetilcolina na junção pós-sináptica. O curare é obtido de espécies tropicais de *Strychnos* e *Chondrodendron*. Em climas quentes, o desenvolvimento de algas azuis-esverdeadas, *Anabaena flos-aquae*, em águas de lagos, produz uma neurotoxina, a anatoxina A, que despolariza e bloqueia tanto os receptores nicotínicos quanto os muscarínicos, causando morte em animais que bebem a água desse tipo de lago após minutos ou até horas devido a uma parada respiratória.

A metilicaconitina é um norditerpenoide presente na *Delphini-um barbeyi* (esporinha) e em algumas espécies associadas. O gado contaminado apresenta tremores musculares, ataxia e prostração e morre devido à insuficiência respiratória. O alcaloide tem alta afinidade pelo receptor nicotínico de acetilcolina neuromuscular e causa morte devido ao bloqueio da acetilcolina na junção neuromuscular.

Danos ao músculo esquelético Sementes maduras das espécies venenosas de *Thermopsis* (família Leguminosae) contêm alcaloides quinolizidínicos, principalmente anagirina e termopsina. Crianças pequenas que comem sementes desse tipo apresentam cólicas abdominais, náuseas, vômitos e cefaleia, que duram até 24 horas.

Calcificação de tecidos e ossos

Ossos e tecidos moles O consumo de *Solanum malacoxylon* (família Solanaceae), que contém uma substância solúvel em água similar à vitamina D, induz a calcificação de todo o sistema vascular, especialmente do coração e da aorta. A cartilagem das articulações, dos pulmões e dos rins pode também ser afetada. Ovelhas e vacas são igualmente afetadas pela ingestão da planta. O consumo de *Cestrum diurnum* e *Cestrum laevigatum* também causa hipercalcemia e extensa calcificação dos tecidos moles de animais.

Sistema reprodutivo e teratogênese

Substâncias abortivas Além das ações no sistema nervoso, a swainsonina, nos legumes *Astragalus* e *Oxytropus*, frequentemente causa aborto quando essas plantas são ingeridas por gado prenhe. Dois gêneros de legumes tropicais, *Leucaena* e *Mimosa*, contêm um aminoácido tóxico, a mimosina. Em grandes quantidades de folhas e sementes de *L. leucocephala*, *L. glauca* e *M. pudica*, a mimosina causa incoordenação da marcha, bócio e problemas no sistema reprodutivo, que incluem infertilidade e morte fetal.

A lectina da semente do melão-de-são-caetano (*Momordica charantia*, família Cucurbitaceae) demonstrou apresentar ações antifertilidade, abortivas e embriotóxicas. As lectinas são glicoproteínas de cadeia simples, α e β-momorcarinas, que sabidamente induzem o aborto durante a gestação em humanos.

Substâncias teratogênicas Defeitos congênitos que ocorrem em vacas e cabras que se alimentam do pasto de *V. californicum* podem também ser gerados experimentalmente em galinhas, coelhos, ratos, camundogos, *hamsters* e em embriões de trutas. Os alcaloides jervina, 11-desoxojervina e 3-*O*-glicosil-11-desoxojervina são responsáveis pelos defeitos. Os alcaloides *Veratrum* bloqueiam a síntese do colesterol e, dessa forma, bloqueiam a resposta do tecido fetal-alvo ao lócus de gene homólogo *sonic hedgehog* (SHH), que desempenha um papel no padrão de desenvolvimento da cabeça e do cérebro. A perda das estruturas faciais de linha média e malformações incluem ciclopia, exenfalia e microftalmia.

Um conjunto de malformações fetais caracterizadas por deformações dos membros e da coluna vertebral é encontrado em gado que se alimenta de pasto de *Lupinus caudatus* e *Lupinus formosus*, *N. glauca* (tabaco) e *Conium maculatum* (funcho-selvagem-cicuta) durante períodos gestacionais sensíveis. Os alcaloides ativos identificados nessas plantas, anagirina (*L. caudatus*), amodendrina (*L. formosus*), anabasina (*N. glauca*) e coniína (*C. maculatum*), podem gerar redução dos movimentos fetais durante os períodos gestacionais suscetíveis e, dessa forma, causar malformação.

REFERÊNCIAS

Barceloux DG: *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants and Venomous Animals*. Hoboken, NJ: John Wiley, 2008.

Nelson LS, Shih RD, Balick MJ (eds): *Handbook of Poisonous and Injurious Plants*, 2nd ed. New York: New York Botanical Garden/Springer, 2007.

QUESTÕES

1. Todas as seguintes afirmações sobre a toxicidade das plantas são verdadeiras, EXCETO:
   a. A variabilidade genética desempenha um papel na toxicidade das plantas.
   b. Toxinas de plantas são mais concentradas nas folhas.
   c. Plantas jovens podem ter maior concentração de toxina do que plantas mais velhas.
   d. O clima pode influenciar a toxicidade das plantas.
   e. A composição do solo pode alterar a produção de toxina de uma planta.

2. Qual dos seguintes efeitos ocorre devido à intoxicação de animais por erva-de-são-joão (*Hypericum perforatum*)?
   a. Inibição mitótica
   b. Dermatite de contato
   c. Inibição da síntese de DNA
   d. Fotossensibilidade
   e. Hemorragia

3. Qual das seguintes espécies vegetais seria MENOS suscetível de causar dermatite alérgica de contato?
   a. *Urtica*
   b. *Philodendron*
   c. *Rhus*
   d. *Dendranthema*
   e. *Hevea*

4. Qual dos seguintes mecanismos é responsável por provocar vômitos e diarreia devido à ingestão de uma planta tóxica?
   a. Relaxamento do esfíncter esofágico inferior
   b. Contração da camada muscular do estômago
   c. Irritação das mucosas
   d. Interferências com os canais de íons cloreto
   e. Interação com um inibidor da proteína G

5. Qual das seguintes afirmações sobre a toxicidade da lectina é FALSA?
   a. Lectinas têm afinidade pela *N*-acetilglicosamina em neurônios de mamíferos.
   b. O consumo de lectinas pode causar distúrbio gastrintestinal grave.
   c. O índice de mortalidade após a ingestão de uma dose fatal é muito alto.
   d. Algumas lectinas tóxicas inibem a síntese proteica.
   e. Uma dieta rica em lectinas tem sido associada a redução do ganho de peso.

6. A colchicina, encontrada nos bulbos do lírio:
   a. Provoca desidratação grave.
   b. Às vezes é usada como purgante.
   c. Provoca dermatite de contato grave.
   d. Inibe a síntese de esfingolipídeos.
   e. Bloqueia a formação de microtúbulos.

7. A ativação de um receptor vaniloide é característica de qual dos seguintes produtos químicos?
   a. Acetilandromedol
   b. Capsaicina
   c. Colchicina
   d. Ergotamina
   e. Linamarina

8. Qual das seguintes espécies vegetais é conhecida por causar arritmias cardíacas devido a sua ingestão?
   a. *Dieffenbachia*
   b. *Phytolacca americana*
   c. *Digitalis purpurea*
   d. *Pteridium aquilinum*
   e. *Cicuta maculaté*

9. O dicumarol, um metabólito fúngico, causa qual dos efeitos a seguir?
   a. Deficiência de protrombina
   b. Convulsões epileptiformes
   c. Insuficiência renal aguda
   d. Fotossensibilidade
   e. Superativação parassimpática

10. Qual das seguintes toxinas de plantas NÃO afeta a junção neuromuscular?
    a. Nicotina
    b. Anabasina
    c. Curare
    d. Anatoxina A
    e. Muscimol

UNIDADE VI TOXICOLOGIA AMBIENTAL

CAPÍTULO

28

Poluição do Ar*

Daniel L. Costa

POLUIÇÃO DO AR EM PERSPECTIVA

EVIDÊNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE EFEITOS SOBRE A SAÚDE

Poluição do ar exterior

Exposições agudas e ocasionais

Exposições de longo prazo

Poluição do ar interior

Síndrome dos edifícios doentes

Doenças relacionadas com edifícios

POLUENTES DO AR AMBIENTE EXTERIOR

Poluição do ar redutora clássica

Dióxido de enxofre

Ácido sulfúrico e sulfatos relacionados

Material particulado

Poluição fotoquímica do ar

Exposições crônicas ao *Smog*

Ozônio

Dióxido de nitrogênio

Outros oxidantes

Aldeídos

Formaldeído

Acroleína

Monóxido de carbono

O QUE É UM EFEITO ADVERSO À SAÚDE?

CONCLUSÃO

* Este artigo foi revisado pelo National Health and Environmental Effects Research Laboratory, U.S. Environmental Protection Agency e aprovado para publicação. A aprovação não significa que os conteúdos refletem, necessariamente, as opiniões e as políticas da Agência.

PONTOS-CHAVE

- A poluição do ar redutora, caracterizada por dióxido de enxofre e fumaça, é capaz de induzir efeitos deletérios à saúde humana.
- A poluição fotoquímica do ar origina-se de uma série de complexas reações que ocorrem na troposfera, próximo à superfície terrestre, e é formada por uma mistura de ozônio, óxidos nítricos, aldeídos, nitratos de peroxiacetila e uma miríade de radicais hidrocarbonetos reativos.
- O ar de ambientes internos pode ser ainda mais complexo do que o ar de ambientes abertos, e o ar externo pode penetrar no ambiente interno, apesar de a troca de ar em prédios ser reduzida.
- A síndrome dos edifícios doentes pode ocorrer em prédios comerciais novos, pouco ventilados ou recentemente reformados devido à vazão de gás de produtos de combustão, produtos químicos voláteis, materiais e vapores biológicos e emissões provenientes do mobiliário.

POLUIÇÃO DO AR EM PERSPECTIVA

A poluição atmosférica é uma realidade decorrente do estilo de vida do século XXI, e a qualidade insatisfatória do ar afeta agora grandes áreas geográficas. Em geral, as exposições do público caracterizam-se por períodos prolongados de nível de exposição relativamente baixo a complexas misturas fotoquimicamente transformadas de emissões industriais e de fontes móveis, podendo haver incursões periódicas a exposições moderadas devido às condições do tempo. Inicialmente, foram muito coletadas informações científicas sobre o impacto da poluição do ar na saúde humana em relação aos diferentes componentes individuais que formam a complexa mistura dos poluentes do ar. Esse conhecimento, por sua vez, foi usado tanto para desenvolver padrões para a saúde pública quanto para estabelecer controles regulatórios. Em razão da evidente complexidade da poluição do ar urbano, as pesquisas foram planejadas para incluir o estudo da interação e da transformação de poluentes individuais dentro de sistemas atmosféricos – uma verdadeira reprodução da complexidade da exposição no mundo real.

Classicamente, a poluição do ar tem sido diferenciada de acordo com a natureza química redox de seus componentes primários. A atmosfera do tipo redutora é mais associada aos processos de fundição e combustão na indústria, nos quais SO_2 e fumaça provenientes da combustão incompleta de carvão acumulam-se na forma de névoa ácida. Essa mistura ácida reage com superfícies, corroendo metal e alvenaria, característica típica da química redutiva. De forma diferente, na poluição fotoquímica do ar, os produtos de reação atmosférica da exaustão de automóveis são NO_x e muitos oxidantes fotoquímicos secundários, como O_3, aldeídos e espécies eletrofílicas de radicais hidrocarboneto. Hoje, a maioria das áreas metropolitanas apresenta atmosferas com ambos os tipos de poluentes do ar, redutores e oxidantes.

Nas nações industrializadas, fica-se mais de 80% do tempo em ambientes internos, como, por exemplo, no trabalho, na escola, em casa ou no trajeto entre esses lugares dentro de um automóvel. Em geral, a permanência em ambientes internos é desproporcionalmente maior para os adultos, que têm menos tempo para participar de atividades em ambientes externos, em especial durante o dia, quando os poluentes externos costumam estar em níveis mais elevados. Crianças e trabalhadores de ambientes externos, ao contrário, estão muito mais propensos ao contato com a poluição do ar externo na pior forma, devido aos altos níveis de atividades desses subgrupos. Comparando-se com trabalhadores de escritórios, esses subgrupos podem estar expostos a doses consideravelmente altas de poluentes.

O ar de ambientes internos pode ser mais complexo do que o ar externo. O ar externo pode adentrar no ambiente interno, apesar de ser considerada reduzida a troca de ar em prédios. A média de troca de ar em um domicílio é de cerca de uma variação por hora, e, portanto, a concentração de poluentes em ambientes internos pode variar de 30 a 80% das concentrações externas. Nos locais onde existem fontes internas independentes de contaminação, a razão entre a concentração de um poluente de ambiente interno em relação aos poluentes de ambiente externo pode até exceder 1 (p. ex., NO_2). Assim, a complexa existência de múltiplas fontes evidencia a importância de se avaliar o cenário total de exposição, para que se possam entender a natureza da poluição do ar e seus potenciais efeitos em seres humanos (Fig. 28.1).

EVIDÊNCIA EPIDEMIOLÓGICA DE EFEITOS SOBRE A SAÚDE

Poluição do ar exterior

Exposições agudas e ocasionais O direcionamento e o desenho dos estudos clínicos e epidemiológicos atuais, conhecidos como estudos de painel, têm base principalmente em dados de indivíduos. São estudados grupos de pessoas (p. ex., idosos em asilos, crianças em idade escolar) em seus ambientes de vivência, a partir do uso de ferramentas clínicas minimamente ou não invasivas (p. ex., funções cardíaca e pulmonar, análise de sintomas, exames de sangue, etc.), para correlacionar os efeitos com o ambiente e/ou com o ambiente individual e as medidas de poluição do ar. Apesar da eficácia de estudos com grandes grupos de pessoas, prefere-se utilizar dados individuais diretos, na tentativa de correlacionar biomarcadores com a exposição. Estudos recentes têm demonstrado aumento de mudanças súbitas na função cardiopulmonar mesmo em exposições à poluição muito moderada do ar.

Exposições de longo prazo Estudos epidemiológicos dos efeitos crônicos da poluição do ar são difíceis de conduzir devido à natureza do objetivo: a associação entre os resultados e as exposições de longo prazo. A abordagem habitual de estudos retrospectivos e transversais é frequentemente afetada pelo mascaramento, devido a variáveis desconhecidas e dados históricos inadequados sobre a exposição. Um bom exemplo do problema de mascara-

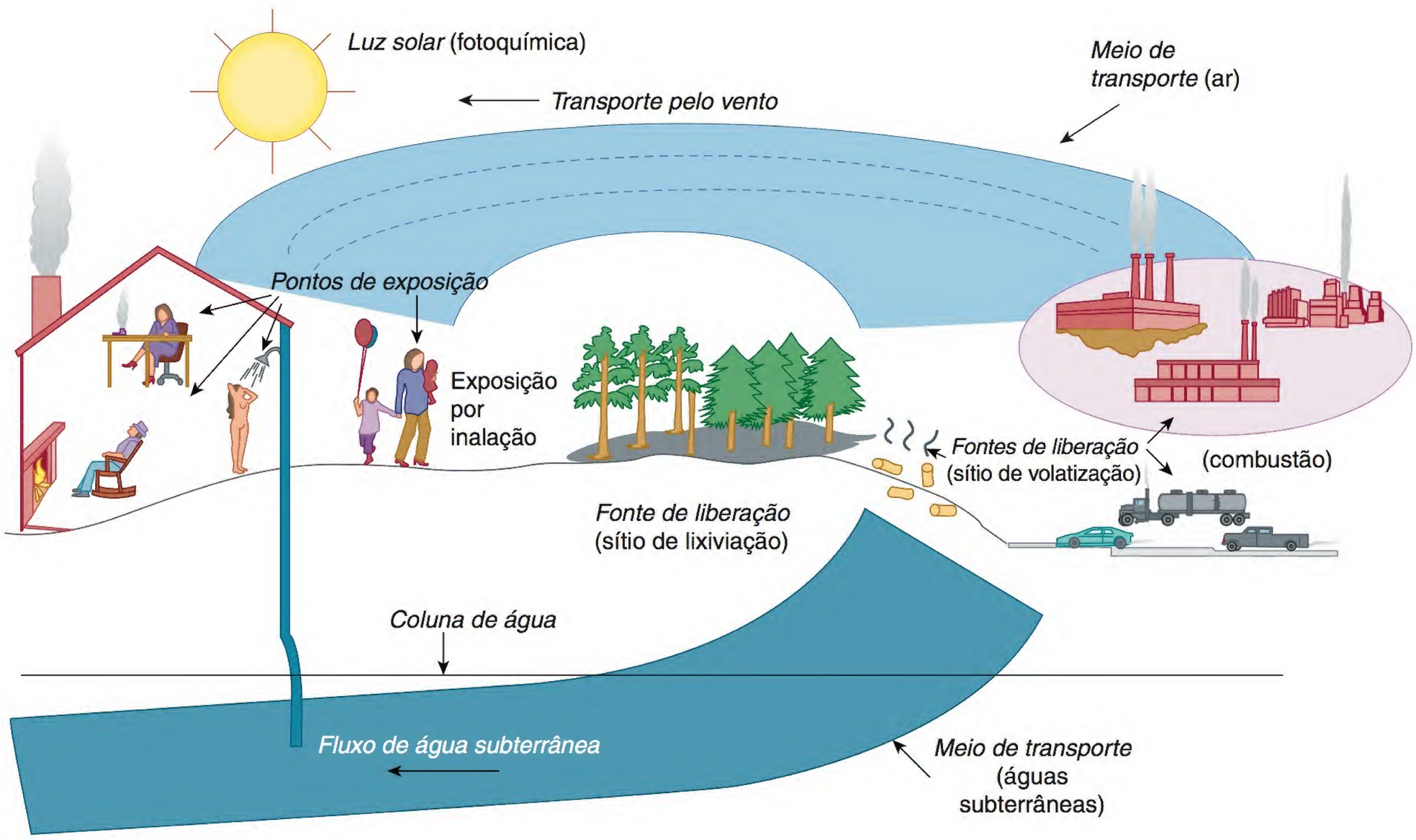


FIGURA 28.1 Ilustração dos fatores que contribuem para o modelo de exposição individual total, mostrando como interagem os fatores internos e externos.

mento é o hábito de fumar. Sem um controle extensivo do fumo ativo ou passivo, a possibilidade de distinguir o impacto da poluição do ar ou uma doença consequente, como bronquite crônica e enfisema, é muito reduzida, devido ao vasto número de doenças atribuíveis ao hábito de fumar e à imprecisão da maioria dos índices que determinam a exposição ao fumo. Contudo, os estudos prospectivos têm a vantagem de um controle mais preciso das variáveis de mascaramento, a exemplo do rastreamento de cotinina urinária como um índice de exposição à fumaça do tabaco, mas que podem ser muito caros e requerer mais tempo e dedicação por parte dos investigadores e da população participante do estudo. Dependendo do tamanho e do tipo de estudo, as avaliações de exposição podem ser bem complexas, e a desistência de indivíduos participantes é, às vezes, imprevisível.

O papel da poluição do ar em relação ao câncer de pulmão também é difícil de avaliar, pois a grande maioria dos casos de câncer de pulmão resulta do hábito de fumar cigarro. No entanto, muitos compostos considerados como poluentes do ar urbano têm potencial carcinogênico. A Figura 28.2 apresenta estimativas das contribuições relativas de vários agentes químicos para a taxa de câncer de pulmão *não* associada ao cigarro, a qual, para o ar externo, é estimada em aproximadamente 2 mil casos por ano. Esse número é comparável a cerca de 2 mil casos por ano em fumantes passivos e mais de 100 mil casos por ano em fumantes ativos. Compostos orgânicos voláteis (VOCs), agentes contendo nitrogênio e halogenados orgânicos constituem a maioria dos agentes que foram estudados em bioensaios genéticos e com animais. Grande parte desses compostos é proveniente de fontes de combustão, incluindo fumo, usinas de energia, incineradores, automóveis e, também, liberações químicas transitórias ou acidentais. Contudo, a origem da poluição do ar interior está, principalmente, na fumaça do cigarro e no radônio, com alguma contribuição proveniente de compostos que liberam gases (p. ex., adesivos e polímeros de carpete).

Poluição do ar interior

Atualmente, há uma crescente conscientização de que a poluição do ar interno pode induzir o aparecimento de efeitos adversos à saúde. As preocupações em relação ao ar interior são ainda controversas, pois muitos problemas de saúde associados com a poluição em ambientes fechados costumam apresentar sintomas não específicos e parecem envolver uma grande variedade de potenciais toxicantes e fontes. As respostas à poluição do ar interior também parecem ser afetadas por fatores ambientais, como temperatura e umidade.

Síndrome dos edifícios doentes Trata-se de uma porção de incômodos, constituída de um conjunto de sintomas persistentes, com duração, no mínimo, de 2 semanas (Tab. 28.1), e que surge em, aproximadamente, 20% das pessoas expostas. Em geral, não é possível determinar a etiologia específica dos sintomas, mas pouco tempo depois de a pessoa deixar o edifício, eles diminuem ou desaparecem. Frequentemente, mas não sempre, essa síndrome ocorre em prédios novos, pouco ventilados, ou prédios de escritórios recém-reformados. Suspeita-se que as causas responsáveis por esse problema incluam produtos de combustão, produtos químicos domésticos, vapores e materiais biológicos e emissões provenientes do próprio mobiliário. O sintoma mais frequente é irritação de olhos, nariz e garganta, que pode se tornar intolerável depois de exposições repetidas. Os diversos fatores que contribuem para esses efeitos são pouco conhecidos, mas sabe-se que incluem os de suscetibilidade do indivíduo, como estresse, fadiga, dieta e uso de álcool. Hoje, são utilizados, nos laboratórios,

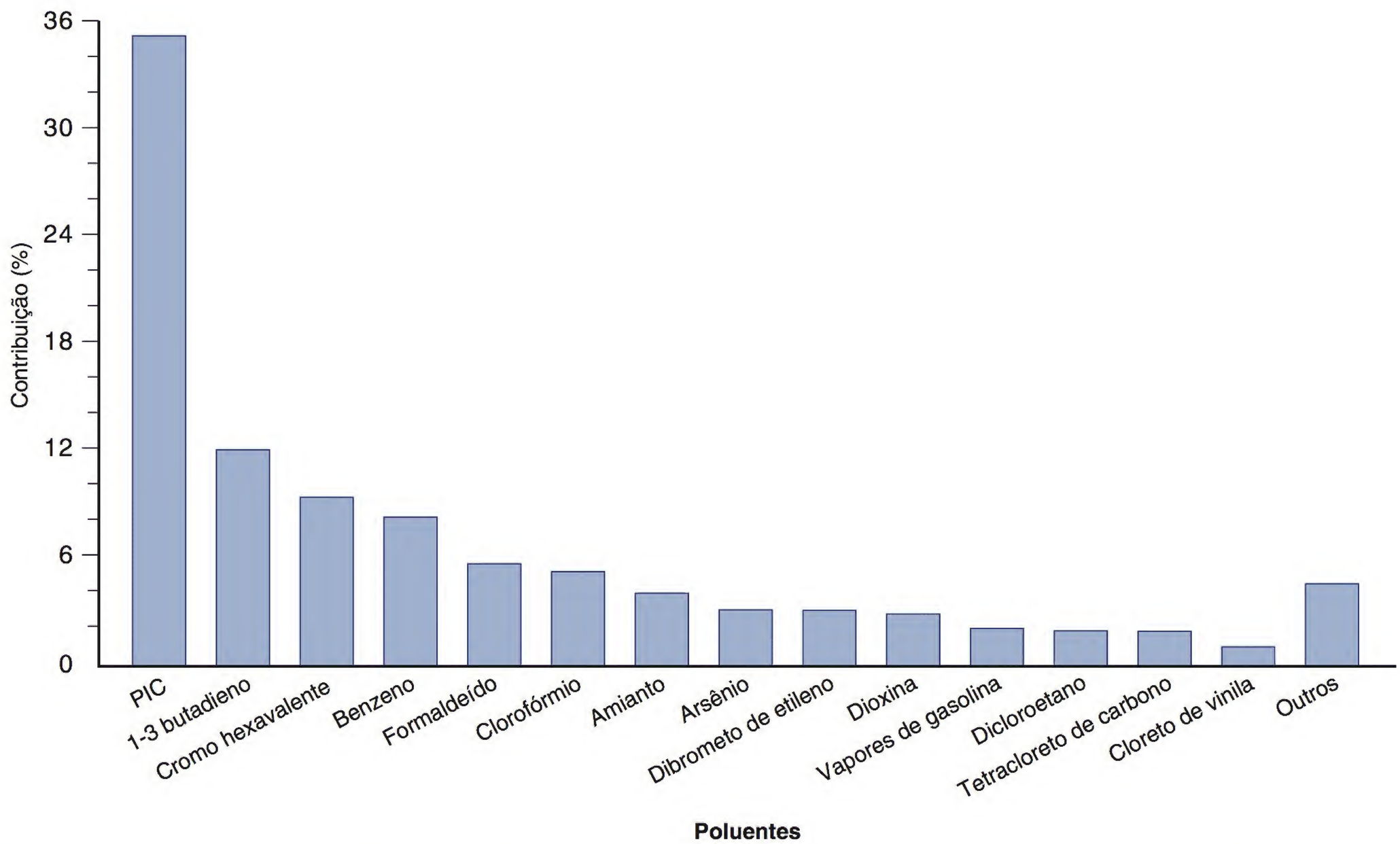


FIGURA 28.2 Contribuição relativa de poluentes do ar para as taxas de câncer de pulmão, após exclusão dos casos de câncer provocados por fumo de cigarro. A estimativa é de aproximadamente 2 mil casos por ano de cânceres provocados por fontes de poluição do ar não provenientes de fumo de tabaco. (Reproduzida com permissão de Lewtas J: Airborne carcinogens. *Pharmacol Toxicol* 72 (suppl 1): S55-S63, 1993.) PIC = produtos de combustão incompleta.

alguns biomarcadores de resposta, como irritação sensorial dos olhos em voluntários e, às vezes, em animais.

Doenças relacionadas com edifícios Para esse grupo de doenças, as condições são bem documentadas, com critérios de diagnóstico definidos, e, em geral, a etiologia é reconhecível, sendo utilizadas estratégias convencionais de tratamento médico. Estão incluídas, nesse grupo, muitas doenças relacionadas com contaminantes e agentes biológicos (p. ex., doença dos legionários, pneumonites hipersensíveis, febres úmidas), como as alergias provocadas pelo contato com pelos de animais, ácaros da poeira e baratas. O tratamento médico e a mitigação da exposição (eliminação da fonte ou proteção individual) costumam ser necessários para combater os sintomas. Alguns poluentes do ar externo podem causar problemas em ambientes internos, mais notavelmente, o monóxido de carbono (CO) proveniente de aquecedores mal ventilados. Exposições internas ao dióxido de nitrogênio (NO_2) também podem causar problemas, sobretudo no caso de indivíduos sensíveis, como os asmáticos. Quando concentrações de CO, NO_2 e muitos outros VOCs provocam sinais e sintomas pouco definidos, as respostas podem ser diagnosticadas de maneira incorreta como a síndrome dos edifícios doentes. É interessante notar que, em estudos de toxicologia animal, foi demonstrado que muitos inalantes, como o NO_2 e o tricloroetileno (um VOC comum em atmosferas interiores, proveniente de água clorada ou roupas lavadas a seco), reduzem as defesas imunológicas e permitem a proliferação de patógenos oportunistas nos pulmões. Em se tratando de poluição do ar, é particularmente controverso o envolvimento da imunossupressão, porém tal aspecto é importante devido a sua natureza insidiosa e suas implicações em todas as doenças relacionadas a edifícios. Esse assunto é ainda mais difícil devido à complexidade dos ambientes internos, os quais envolvem agentes químicos e biológicos (ácaros da poeira, fungos, mofos, etc.), que, por sua vez, podem resultar em interações inesperadas que não foram estudadas e, portanto, ainda não consideradas na avaliação da poluição do ar interior.

TABELA 28.1 Sintomas associados com a síndrome dos edifícios doentes

Irritação de olhos, nariz e garganta
Cefaleia
Fadiga
Tempo de atenção reduzido
Irritabilidade
Congestão nasal
Dificuldade de respirar
Sangramento nasal
Pele seca
Náusea

POLUENTES DO AR AMBIENTE EXTERIOR

Poluição do ar redutora clássica

A poluição do ar do tipo redutora, constituída de dióxido de enxofre (SO_2) e fumaça, é capaz de induzir efeitos desastrosos para a saúde humana. Há muito tempo, estudos empíricos com humanos e animais evidenciaram o efeito irritante do SO_2 e seu papel nesses incidentes. Já para o potencial de interações entre copoluentes na mistura de fumaça sulforosa, os resultados de testes replicados em laboratório de exposição humana são inconclusivos. Apesar disso, o efeito irritante da maioria dos produtos de S-oxidação na atmosfera está bem documentado, e existem razões tanto empíricas como teóricas para suspeitar que esses produtos atuem amplificando a irritação provocada por atmosferas de emissão de combustíveis fósseis via transformações químicas.

Dióxido de enxofre

Toxicologia geral O dióxido de enxofre é um gás irritante, solúvel em água, absorvido predominantemente pelas vias áreas superiores, podendo provocar broncoconstrição e secreção de muco em um grande número de espécies, incluindo seres humanos. As concentrações de SO_2 geralmente encontradas nos Estados Unidos são, em média, menores que 0,1 ppm. O uso obrigatório de combustíveis mais limpos (*low-S**), equipamentos de controle de emissão e chaminés de grandes alturas é o responsável pelas reduções. No entanto, o raro fluxo reverso da fumaça de chaminés, devido a inversões meteorológicas próximas às fontes, pode resultar em níveis de SO_2 que apresentem algum perigo à saúde. Exposições de 2 minutos na faixa de 0,4 a 1 ppm podem induzir broncoconstrição em asmáticos em atividade física em 5 a 10 minutos. Entretanto, os efeitos de baixo nível e de longo prazo diminuem gradativamente as defesas do pulmão, o que continua a preocupar algumas instâncias reguladoras. Em modelos experimentais com roedores, tem sido mostrado que o SO_2, por si só, é capaz de reduzir os mecanismos de combate a bactérias macrófago-dependentes. Camundongos expostos apresentam infecções mais frequentes e severas, sugerindo-se que tal efeito está ligado à redução na habilidade de produzir oxidantes endógenos para combater as bactérias.

A penetração de dióxido de enxofre nos pulmões é maior durante a respiração pela boca do que durante a respiração nasal. O aumento na taxa de fluxo de ar estende a penetração de gás à parte mais profunda do pulmão. Como resultado, as pessoas praticantes de exercício físico poderiam inalar mais SO_2 e, como acontece com os asmáticos, estariam propensas a desenvolver irritações em maior grau. Uma vez depositado, o dióxido de enxofre dissolve-se nos fluidos das vias aéreas e nos pulmões como sulfito ou bissulfito, e é rapidamente distribuído pelo corpo. O sulfito interage com receptores sensoriais nas vias aéreas, estimulando a broncoconstrição.

Efeitos na função pulmonar A resposta pulmonar básica à inalação de SO_2 é uma leve broncoconstrição, que se reflete em um aumento mensurável da resistência ao fluxo de ar devido ao estreitamento das vias aéreas. Esse aumento na resistência relacionado à concentração de SO_2 foi observado em cobaias, cães, gatos e humanos.

Ácido sulfúrico e sulfatos relacionados

A conversão de SO_2 em sulfato é favorecida no ambiente. Durante a combustão de óleo e carvão ou durante a fundição de metais, o ácido sulfúrico condensa-se após os processos de combustão com íons de metais e vapor de água disponíveis formando microcinzas (faixa de submicrômetros) voláteis sulfatadas. Reações fotoquímicas que ocorrem na troposfera também são responsáveis pela formação de ácido sulfúrico por meio de mecanismos dependentes ou independentes de metal. Esses sulfatos podem contribuir para os perigos à saúde e para a ocorrência de chuva ácida (Fig. 28.3).

* N. de T.: Com baixo teor de enxofre – BTE.

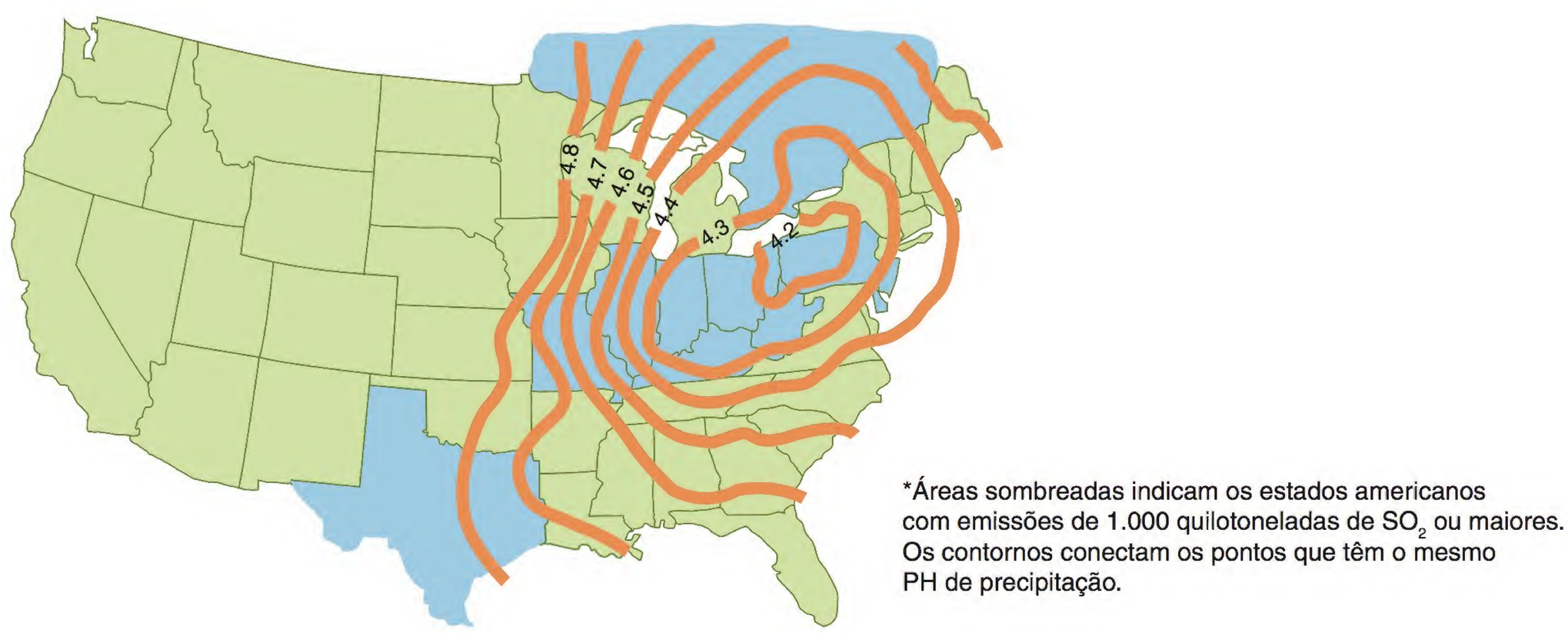


FIGURA 28.3 Áreas da região leste norte-americana onde ocorreram precipitações com pH abaixo de 5: chuva ácida, em 1988. A acidez do ar nessas áreas foi resultante de uma massa de ar que transportou material particulado fino sulfatado de centros industriais da região ocidental. (*National Air Pollutant Emission Trends Report, 1998.*)

Toxicologia geral O ácido sulfúrico é irritante para os tecidos das vias aéreas devido a sua habilidade em protonar (H^+) ligantes de receptores e outras biomoléculas. Tal ação pode causar danos diretamente à membrana ou pode ativar reflexos sensoriais que desencadeiam respostas inflamatórias.

Efeitos na função pulmonar O ácido sulfúrico estimula o aumento na resistência ao fluxo de ar em cobaias devido ao reflexo de estreitamento das vias aéreas, que impede o fluxo de ar de entrada e de saída dos pulmões. Essa resposta pode ser considerada um mecanismo de defesa do organismo para limitar a inalação de ar contendo gases nocivos. A magnitude da resposta está relacionada com a concentração do ácido e o tamanho das partículas. Pequenas partículas são capazes de penetrar profundamente nos pulmões, alcançando receptores que estimulam broncoconstrição e secreção de muco. O muco mais espesso do nariz pode atenuar (por diluição ou neutralização pelos tampões de muco) grande parte da irritação provocada pelo ácido depositado, limitando seu efeito à produção de muco e a um mínimo aumento na resistência do fluxo nasal. Porém, os tecidos das vias aéreas mais distantes e menos protegidos, com suas altas densidades de receptores, são, logicamente, mais sensíveis às partículas do ácido que atingem essas regiões.

Os asmáticos parecem ser mais sensíveis aos efeitos broncoconstritores do ácido sulfúrico do que as pessoas saudáveis, já que apresentam uma certa hiper-responsividade das vias aéreas. As vias aéreas dos asmáticos também são sensíveis a agonistas não específicos da musculatura lisa (p. ex., carbacol, histamina e exercício físico). Em geral, a correlação entre a responsividade das vias aéreas e a inflamação, que parece ser importante para definir a gravidade da asma e o risco de se desenvolverem consequências clínicas negativas, pode também ser um preditivo dos efeitos em resposta aos estímulos ambientais.

Efeitos na depuração mucociliar e na função de macrófagos O ácido sulfúrico altera a capacidade de remoção de partículas dos pulmões e pode, portanto, interferir no principal mecanismo de defesa. O impacto na depuração do muco parece variar diretamente com a acidez do sulfato ácido ($[H^+]$), tendo o ácido sulfúrico o maior efeito, e o sulfato de amônio, o menor. A acidificação do muco é o primeiro parâmetro de associação com os efeitos na saúde da população, afetando a reologia, a viscosidade e a secreção do muco, além da função ciliar.

Efeitos crônicos Como era de se esperar, o ácido sulfúrico induz os mesmos efeitos qualitativos nas vias aéreas provocados pelo dióxido de enxofre em concentrações elevadas. Por ser um aerossol, o ácido sulfúrico deposita-se profundamente ao longo do trato respiratório, e sua alta acidez desencadeia grandes danos nos fagócitos e nas células epiteliais. Assim, a principal preocupação com relação à inalação crônica de aerossóis ácidos é seu potencial de causar bronquite, a qual é um problema em exposições ocupacionais nas quais os empregados estejam expostos a névoas de ácido sulfúrico (p. ex., fábricas de pilhas).

O ácido sulfúrico inalado parece não estimular a inflamação neutrofílica clássica. Em vez disso, a alteração na homeostase eicosanoide resulta na disfunção dos macrófagos e na modificação das defesas do hospedeiro. De fato, a exposição crônica diária de humanos a níveis de aproximadamente 100 $\mu g/m^3$ de ácido sulfúrico pode levar a perturbações na depuração e bronquite crônica leve. Como isso é menor do que uma ordem de grandeza acima dos níveis de névoa de ácido sulfúrico, a possibilidade de que a irritação crônica possa induzir doenças como a bronquite em indivíduos suscetíveis parece ser razoável.

Material particulado

O material particulado (MP) na atmosfera é uma mistura de componentes orgânicos, inorgânicos e biológicos, cuja distribuição relativa da composição pode variar significativamente dependendo das fontes locais. Muitos dados epidemiológicos indicam que o MP induz efeitos à saúde a curto e longo prazos nos níveis ambientais atuais.

Metais Vários estudos de inalação aguda e subcrônica com compostos metálicos específicos em ratos têm sido realizados, em especial com óxidos, cloretos e sulfatos. Praticamente qualquer metal pode ser encontrado no MP ambiental, e muitos deles têm potencial tóxico ou pró-oxidante. Os mais comuns são aqueles liberados pela combustão de petróleo e carvão (p. ex., metais pesados e de transição), metais derivados da crosta terrestre em forma de poeira (p. ex., ferro, sódio e magnésio) e metais liberados por motores desgastados. Os metais derivados de fontes de combustão antropogênica tendem a se associar com a fração fina (< 2,5 μm) do MP, enquanto a fração grosseira (2,5 a 10 μm) é composta por materiais metálicos da crosta (p. ex., Fe_2O_3 e SiO_2).

A solubilidade parece influenciar na toxicidade de muitos metais inalados, pois aumenta a biodisponibilidade do metal (p. ex., o níquel proveniente do cloreto de níquel vs. o óxido de níquel). No entanto, a insolubilidade pode também ser um fator crítico para determinar a toxicidade, pois aumenta o tempo de retenção dentro dos pulmões (p. ex., óxido de cádmio insolúvel vs. cloreto de cádmio solúvel). Além disso, alguns metais, tanto em suas formas solúveis como quando combinados na superfície com silicatos ou materiais bio-orgânicos, podem provocar a transferência de elétrons, induzindo a formação de oxidantes reativos. Esses e outros mecanismos podem estar envolvidos na ação dos metais inalados ligados ao MP.

Interações gás-partícula A coexistência de poluentes gasosos e partículas na atmosfera aumenta a preocupação de que essas fases possam interagir química e fisiologicamente, resultando em efeitos imprevisíveis. Essas interações são possíveis, visto que existem mecanismos que alteram a toxicidade tanto da partícula como do gás.

O processo de fundição de metal ou a combustão de carvão podem emitir ácido sulfúrico fisicamente associado a partículas ultrafinas de óxido de metal. Essas partículas ultrafinas são distribuídas ampla e profundamente nos pulmões, e aumentam a capacidade de irritação além daquela prevista somente com a concentração de ácido sulfúrico. Além disso, a combinação de partículas inertes ou quimicamente ativas com um gás tóxico é capaz de aumentar o efeito do gás, alterando a distribuição da dose ou formando um produto mais tóxico.

Outra interação possível pode resultar da habilidade de poluentes gasosos em influenciar a depuração de partículas dos pulmões ou alterar o metabolismo ou interações celulares com as partículas depositadas nos pulmões. Poluentes gasosos e particulados podem interagir por meio de mecanismos químicos e fisiológicos, aumentando os riscos imediatos ou de longo prazo das complexas atmosferas poluídas.

Matéria carbonácea ultrafina A matéria carbonácea forma o núcleo do MP fino. Os materiais orgânicos, que podem ser de natureza semivolátil ou não volátil, costumam estar mais dispersos dentro da estrutura do MP, formando camadas ou revestimentos. As estimativas do conteúdo carbonáceo variam de forma significativa, mas considera-se que estejam entre 30 a 60% da massa total de MP fino.

Tem sido sugerido que o carbono ultrafino (< 0,1 μm) é mais tóxico do que a mesma substância em tamanho maior (2,5 μm). O MP de diesel é composto de partículas de carbono ultrafinas agregadas com pequenas quantidades de vários compostos nitroaromáticos e policíclicos derivados da combustão e apenas vestígios de metais. Porém, todo o escapamento de diesel também contém quantidades significantes de NO_x, CO, SO_x, formaldeído, acroleína e outros compostos de aldeídos, que são irritantes conhecidos. A mistura de escape do diesel é inflamatória e citotóxica para as células das vias aéreas.

Poluição fotoquímica do ar

A poluição fotoquímica do ar advém de uma série de complexas reações na troposfera, ativadas pelo espectro de raios ultravioleta (UV) da luz solar. Ela consiste em uma mistura que contém ozônio, óxidos de nitrogênio, aldeídos, nitratos de peroxiacetila (NAPs) e grande quantidade de radicais hidrocarboneto reativos. Se há SO_2 presente, também pode ser formado MP de ácido sulfúrico; do mesmo modo, a complexa química pode gerar MP orgânico, vapores de ácido nítrico e concentrados. Dos gases poluentes fotoquímicos, o O_3 é o composto tóxico de maior preocupação, pois é altamente reativo e mais tóxico do que o NO_x. A geração de ozônio ocorre por meio de radicais hidrocarbonetos cíclicos e atinge maiores concentrações do que os radicais hidrocarbonetos intermediários. Em geral, as concentrações dos precursores de hidrocarbonetos no ar ambiente não alcançam níveis suficientes para induzir toxicidade aguda. Sua importância está no papel que exercem nas cadeias de reações fotoquímicas que levam à formação de *smog** ou neblina oxidante.

Apesar de o O_3 ser de importância toxicológica na troposfera, na estratosfera ele exerce um papel protetor essencial. Cerca de 10 km acima da superfície terrestre, há suficiente luz UV de ondas curtas, que separa diretamente o O_2 molecular do $O^{\bullet}$ atômico, que pode recombinar com O_2 para formar O_3. Esse O_3 se acumula em várias centenas de ppm dentro de uma fina camada da estratosfera e absorve a radiação UV incidente de ondas curtas. O O_3 forma-se, decompõe-se e reforma-se para estabelecer uma barreira "permanente" contra a radiação UV, a qual posteriormente se tornou uma preocupação. Essa barreira, nos últimos anos, tem sido ameaçada por várias emissões antropogênicas (gás Cl_2 e alguns fluorocarbonos) que aumentam a degradação do O_3. Restrições atuais ao uso desses agentes químicos degradantes parecem estar sendo efetivas na reversão desse processo. Acredita-se que os benefícios sejam a redução do excesso de infiltração de luz UV na superfície da Terra e redução do risco de câncer de pele, além de diminuição do risco de disfunção do sistema imune.

Na troposfera é diferente, já que o acúmulo de O_3 tem propósito ainda desconhecido e representa uma ameaça para o trato respiratório. Perto da superfície da Terra, o NO_2 proveniente de processos de combustão absorve de maneira eficiente a luz UV de ondas longas, clivando um átomo livre de O e iniciando uma série de reações, assim simplificadas:

$$NO_2 + h\nu \text{ (luz UV)} \rightarrow O^{\bullet} + NO^{\bullet} \quad (1)$$
$$O^{\bullet} + O_2 \rightarrow O_3 \quad (2)$$
$$O_3 + NO^{\bullet} \rightarrow NO_2 \quad (3)$$

Esse processo é inerentemente cíclico, com o NO_2 sendo regenerado pela reação de $NO^{\bullet}$ e O_3. Na ausência de hidrocarbonetos insaturados, essa série de reações alcançaria um equilíbrio, sem excesso ou acúmulo de O_3. Os hidrocarbonetos, em especial olefinas e aromáticos substituídos, são atacados pelo átomo livre $O^{\bullet}$, resultando em compostos oxidados e radicais livres que reagem com o $NO^{\bullet}$ para produzir mais NO_2. Assim, o balanço das reações mostradas nas equações de (1) a (3) é alterado para a direita, levando a um acúmulo de O_3. Essa reação é particularmente favorecida quando a intensidade do sol é maior, ao meio-dia, utilizando o NO_2 proveniente do tráfego matutino. Aldeídos são os principais subprodutos dessas reações. O formaldeído e a acroleína representam cerca de 50 e 5%, respectivamente, do total de aldeídos nas atmosferas urbanas. O NAP (CH_3COONO_2) e seus homólogos também aparecem no ar urbano, muito provavelmente advindos da reação de radicais de peroxiacetila com NO_2.

Exposições crônicas ao *Smog*

Estudos com populações de animais e humanos têm tentado associar doenças degenerativas do pulmão com exposições crônicas à poluição fotoquímica do ar. Estudos transversais e prospectivos têm sugerido uma perda de função pulmonar acelerada em pessoas que vivem em áreas com poluição elevada. Porém, como em vários estudos desse tipo, existem problemas com relação aos fatores de mascaramento (meteorologia, avaliação imprecisa de exposição e variáveis populacionais). Estudos realizados com crianças residentes na Cidade do México, onde havia altos níveis de oxidantes e MP, evidenciaram graves danos epiteliais e metaplasia, além de remodelação permanente no epitélio nasal. Em crianças que migraram para a Cidade do México, vindas de regiões rurais e mais limpas, foram observados prejuízos ainda mais graves, sugerindo que a remodelação nos residentes permanentes transmitiu algum grau de adaptação incompleta. Essas observações não foram confundidas por variáveis socioeconômicas, pois todas as crianças eram de classe média. Esses efeitos nasais aumentaram as preocupações em relação aos tecidos mais frágeis e profundos dos pulmões, nos quais pode ocorrer a deposição substancial de poluentes oxidantes.

Ozônio

Toxicologia geral As estratégias atuais de mitigação para o O_3 não têm tido sucesso devido ao crescimento da população mundial. Com o aumento das áreas de subúrbio e o transporte de massas de ar, de áreas mais povoadas para locais mais rurais, a distribuição geográfica das pessoas expostas aumentou, como no caso do perfil temporal do potencial de exposição. Em outras palavras, as exposições ao ozônio já não são mais estereotipadas como rápidos picos de 1 a 2 horas. Em vez disso, há prolongados períodos de exposição de 6 horas ou mais, no nível NAAQS** ou

* N. de T.: *Smog* = *smoke* + *fog*, isto é, mistura de fumaça e neblina.

** N. de T.: National Ambient Air Quality Standards.

próximo deste, que pode ocorrer tanto no centro da cidade como em áreas suburbanas mais limpas ou rurais a favor do vento.

O ozônio induz uma variedade de efeitos nos humanos e em animais de experimentação, em concentrações que são encontradas em muitas áreas urbanas. Esses efeitos incluem alterações morfológicas, funcionais, imunológicas e bioquímicas. Em razão de sua baixa solubilidade em água, uma parte considerável do ozônio inalado penetra profundamente no pulmão, mas sua reatividade é tal que uma porção de 17 a 40% é removido pela nasofaringe de ratos e humanos em repouso, respectivamente. Porém, independentemente da espécie, a região do pulmão em que se espera ter a maior deposição de O_3 (dose por área de superfície) é a centroacinar, localizada dos bronquíolos terminais até os ductos alveolares. O exercício físico aumenta a concentração de ozônio na área-alvo, pois a penetração de O_3 aumenta com o aumento das taxas de volume e fluxo da inalação. Portanto, é importante considerar o papel do exercício físico em um estudo de O_3 ou qualquer inalante antes de fazer comparações de estudos transversais, em especial se as comparações forem feitas entre espécies.

A resposta morfológica aguda ao O_3 envolve lesões das células epiteliais ao longo de todo o trato respiratório, resultando em perda e substituição de células. As células ciliadas parecem ser as mais sensíveis, enquanto as células de Clara e as secretoras de muco são as menos sensíveis ao O_3.

Como um forte oxidante, o O_3 busca extrair elétrons de outras moléculas. A superfície fluida, que reveste todo o trato respiratório e as membranas celulares abaixo dessa superfície, possui uma quantidade significante de ácidos graxos poli-insaturados, livres ou como parte das estruturas lipoproteicas da célula. Os ácidos graxos têm uma certa labilidade devido às suas duplas ligações, já que os elétrons não pareados são facilmente atacados pelo O_3 para formar ozonetos, que, por fim se recombinam ou se decompõem em lipo-hidroperóxidos, aldeídos e peróxido de hidrogênio. Essas vias são consideradas as que iniciam a propagação dos radicais lipídicos e a auto-oxidação das membranas celulares e das macromoléculas (Fig. 28.4).

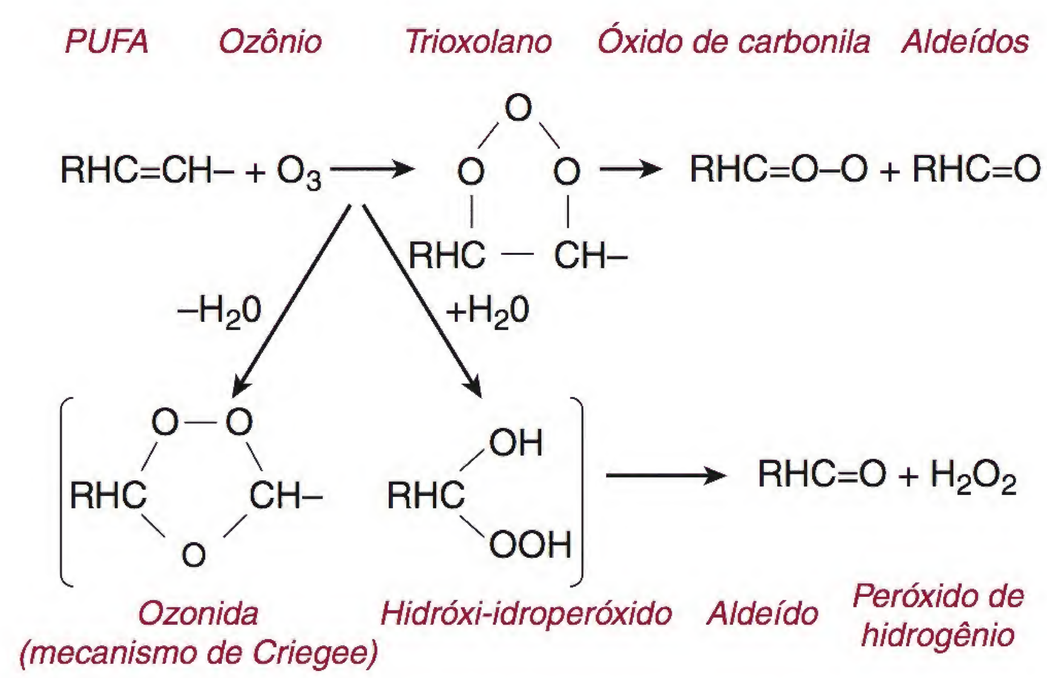


FIGURA 28.4 Principais vias de reação do O_3 com lipídeos presentes no fluido que reveste os pulmões e as membranas celulares. (Adaptada com permissão de *Air Quality Criteria Document for Ozone and Photochemical Oxidants,* 600/P-93/004cF, NCEA. Research Triangle Park, NC:U.S. EPA, 1996.) PUFA = ácidos graxos poli-insaturados.

Efeitos na função pulmonar Pessoas que praticam exercício físico e que estão expostas a 0,12 a 0,4 ppm de O_3 apresentam diminuições reversíveis da capacidade vital forçada (FVC) e do volume expiratório forçado em 1 s (FEV_1), dependendo da concentração, depois de 2 a 3 horas de exposição. De maneira interessante, a disfunção pulmonar resultante da exposição ao O_3 não parece ser mediada pelo nervo vago, mas a resposta pode ser anulada por analgésicos como ibuprofeno e opiáceos, que também reduzem dor e inflamação. Assim, os reflexos de dor envolvendo redes de fibras do tipo C provavelmente são importantes na redução do volume expiratório forçado. Entretanto, estudos com animais mostram a influência relevante dos reflexos vagais em alterar a reatividade das vias aéreas e estimular broncoconstrição. Sugere-se que as vias aéreas hiper-reativas possam predispor respostas a outros poluentes, como ácido sulfúrico ou aeroalérgenos.

Interações do ozônio com copoluentes Uma abordagem mais simples dos complexos estudos com *smog* sintéticos, ainda que abordando as interações entre poluentes, envolve a exposição de animais e humanos a misturas binárias ou terciárias de poluentes que ocorrem juntos no ar ambiente. Esses estudos têm uma série de substituições, mas a maioria aborda as interações de O_3 e dióxido de nitrogênio ou O_3 e ácido sulfúrico. Dependendo do tipo de estudo, existem evidências que comprovam aumento ou antagonismo de alterações da função pulmonar, patologia dos pulmões ou outros marcadores de lesões. Esse conflito enfatiza a necessidade de se considerarem cuidadosamente os fatores que podem interferir em estudos envolvendo múltiplos determinantes e a natureza da exposição que é mais relevante para a realidade.

A dificuldade de interpretação aumenta de acordo com o número de variáveis que interagem. Estudos com atmosferas complexas contendo carbono com revestimento ácido e O_3 em níveis próximos ao do ambiente mostraram evidências de interações na função pulmonar e nas atividades de receptores de macrófagos. A separação estatística das variáveis que interagem e das respostas do indivíduo, ou entre ambas, é difícil. Entretanto, pretende-se avaliar a complexa mistura à qual as pessoas estão expostas. Abordagens criativas para se compreenderem as respostas às misturas devem ser planejadas na próxima década.

Dióxido de nitrogênio

Toxicologia geral O dióxido de nitrogênio, como o ozônio, é um irritante para o pulmão que pode provocar edema pulmonar se for inalado em altas concentrações. Potenciais exposições representam uma ameaça para agricultores, já que quantidades suficientes de NO_2 podem ser liberadas por ensilagem fermentada. A falta de ar acontece rapidamente com exposições de 75 a 100 ppm de NO_2, seguida de edema tardio e sintomas de lesão pulmonar, conhecidos como doença dos enchedores de silo. O dióxido de nitrogênio é, também, um importante poluente de ambientes interiores, especialmente em casas pouco ventiladas com fogão a gás e aquecedores a querosene. Nessas circunstâncias, crianças pequenas e pessoas que delas cuidam, que passam várias horas dentro de casa, podem estar em risco. A fumaça do cigarro também pode ser uma fonte de baixos níveis de NO_2 em ambientes internos.

As lesões no trato respiratório são mais aparentes nos bronquíolos terminais. Em concentrações elevadas, os ductos alveolares e os alvéolos também são afetados, sendo as células do tipo I as que demonstram maior sensibilidade ao efeito oxidante. Existem, ainda, lesões nas células epiteliais dos bronquíolos, com perda de células ciliadas, bem como perda de grânulos secretórios das células de Clara.

Inflamação do pulmão e defesa do hospedeiro O NO_2 não induz uma inflamação neutrofílica significante em humanos em concentrações de exposição próximas àquelas encontradas em ambientes externos. Sabe-se que depois de 4 a 6 horas de exposição a 2 ppm, próximas ao pico de concentração do oxidante em ambientes internos, há inflamação dos brônquios. Exposições a 2 a 5 ppm parecem afetar os linfócitos T, em especial as células $CD8^+$ e células *natural killer*, que agem na defesa dos hospedeiros contra vírus. Apesar de essas concentrações serem altas, estudos epidemiológicos evidenciam aumento do número de infecções associadas com exposição ao NO_2, em especial em casos de uso sazonal de aquecedores a gás em ambientes internos pouco ventilados. A suscetibilidade a infecções parece ser influenciada mais pelo pico de concentração nas exposições do que pela duração da exposição. Os efeitos são atribuídos à redução da função dos macrófagos e à diminuição da depuração dos pulmões.

Outros oxidantes Embora tenha sido identificado um grande número de oxidantes reativos no *smog* fotoquímico, a maioria é de vida curta, devido às suas reações com copoluentes. O PAN é um reativo, constituinte irritante da atmosfera oxidante, que se pensa ser responsável por grande parte da atividade do *smog* associada à ardência nos olhos. É mais solúvel e reativo do que o ozônio, e rapidamente se decompõe nas membranas mucosas antes de atingir os tecidos mais profundos dos pulmões. A córnea tem muitos receptores irritantes e responde de forma rápida, enquanto o PAN absorvido pelos fluidos mucosos mais espessos das regiões proximais do nariz e da boca provavelmente nunca alcance seu alvo.

Aldeídos Vários aldeídos são formados a partir do ar poluído como produtos de reação na foto-oxidação de hidrocarbonetos. O formaldeído (HCHO) e a acroleína ($H_2C{=}CHCHO$) contribuem para o odor e para a irritação sensorial e dos olhos, causada pelo *smog* fotoquímico. O formaldeído constitui cerca de 50% do total de aldeídos presentes no ar poluído, enquanto a acroleína, a mais irritante dos dois, pode constituir 5% dos aldeídos totais. O acetaldeído (C_3HCHO) e muitos outros aldeídos de cadeia longa completam o restante, mas não são tão irritantes devido a sua baixa concentração e menor solubilidade nos fluidos das vias aéreas. O formaldeído e a acroleína são encontrados na fumaça principal do tabaco (90 e 8 ppm, respectivamente, por sopro) e na fumaça lateral. O formaldeído é, também, um importante poluente de ambientes internos e pode, com frequência, alcançar maiores concentrações do que as externas, devido à liberação de gases de estofamentos novos ou outros móveis.

Estudos empíricos mostraram que o formaldeído e a acroleína são agonistas competitivos dos mesmos receptores nas vias aéreas. Portanto, a irritação pode estar relacionada não à concentração "total de aldeído", mas a taxas específicas de acroleína e formaldeído. Suas diferenças relativas em solubilidade, com o formaldeído sendo, de alguma maneira, mais solúvel em água e, portanto, tendo maior captação nasofaríngea, podem alterar essa relação em certas condições de exposição (p. ex., exercício físico). A acroleína é muito reativa e pode interagir facilmente com macromoléculas de muitos tecidos.

Formaldeído O formaldeído é um irritante sensorial primário e é absorvido pelas membranas mucosas do nariz, pelo trato respiratório superior e pelos olhos. A curva dose-resposta para o formaldeído é abrupta: de 0,5 a 1 ppm fornece um odor detectável; de 2 a 3 ppm induz irritação leve; e de 4 a 5 ppm é intolerável para a maioria das pessoas. O formaldeído age por meio das fibras nervosas sensoriais, que sinalizam pelo nervo trigêmeo (CN-V) a indução do reflexo de broncoconstrição pelo nervo vago (CN-X). A introdução de formaldeído por uma cânula traqueal, para evitar a passagem pelo nariz, aumenta bastante a resposta irritante, indicando que os receptores mais profundos do pulmão também podem ser ativados. O formaldeído pode interagir, durante a inalação, com sais solúveis em água, como o cloreto de sódio (submicrômetro), e com partículas compostas por carbono, produzindo irritação além da esperada para o gás sozinho.

Recentemente, dois aspectos da toxicologia do formaldeído trouxeram-no para as principais notícias. Um aspecto é sua presença em atmosferas interiores como um produto gasoso proveniente de materiais de construção, incluindo compensado de madeira, móveis e até isolamento impróprio de espuma de ureia-formaldeído polimerizada. Esse vapor irritante tem o potencial de causar efeitos respiratórios em níveis de exposição encontrados normalmente. O formaldeído é, também, um fraco alérgeno. Estudos recentes sugeriram que ele causa câncer nasofaríngeo em humanos e pode estar associado a leucemia e câncer sinonasal.

Acroleína A acroleína é um aldeído insaturado mais irritante do que o formaldeído. Concentrações abaixo de 1 ppm causam irritação dos olhos e das membranas mucosas do trato respiratório. Após exposição à acroleína, o mecanismo de resistência ao fluxo pulmonar aumenta, o que parece ser mediado por fibras do tipo C e, centralmente, por um reflexo colinérgico. A inibição da rede de fibras C e a atropina (bloqueador muscarínico) bloqueiam essa resposta. No entanto, aminofilina, isoproterenol e adrenalina (agonistas do sistema nervoso simpático) revertem parcial ou completamente as mudanças, enquanto os anti-histamínicos pirilamina e tripelenamina não têm efeito.

Monóxido de carbono O monóxido de carbono é classificado toxicologicamente como um asfixiante químico, pois sua ação tóxica tem origem na formação de carboxiemoglobina (COHb), o que impede a oxigenação do sangue para transporte sistêmico (ver Cap. 11).

Análises de dados de programas de monitoração de ar na Califórnia indicam que a média dos valores encontrados em 8 horas pode variar de 10 a 40 ppm de CO. Dependendo da localização em uma comunidade, as concentrações de CO podem variar muito. Concentrações no interior dos carros, onde estão os passageiros, no trânsito do centro da cidade eram três vezes maiores do que aquelas encontradas em áreas centrais urbanas e cinco vezes maiores do que as encontradas em áreas residenciais. Ocupantes de veículos circulando por vias expressas geralmente

estão expostos a CO em concentrações variando entre as encontradas nos centros urbanos e as do trânsito do centro da cidade. Concentrações acima de 87 ppm foram encontradas em garagens subterrâneas, túneis e edifícios próximos de rodovias.

Não têm sido observados efeitos na saúde humana para níveis de COHb inferiores a 2%. Níveis superiores a 40% podem ser fatais por asfixia. Em níveis de COHb de 2,5% resultantes de exposições de aproximadamente 90 minutos a cerca de 50 ppm de CO, há alteração no intervalo de discriminação; a aproximadamente 5% de COHb, há alteração de outras capacidades psicomotoras. Alterações cardiovasculares também podem ser observadas em exposições suficientes para gerar COHb em níveis excedentes a 5%.

O QUE É UM EFEITO ADVERSO À SAÚDE?

O objetivo da vigilância da qualidade do ar é claramente evitar ou, na pior das hipóteses, limitar os efeitos negativos da poluição do ar à saúde humana. Porém, deve-se compreender a diferença entre risco ao indivíduo e risco à população. O risco para o indivíduo pode estar além de um limite aceitável e pode colocar a saúde das pessoas em perigo, mas a resposta pode se perder em um índice populacional. Entretanto, o risco para a população é a soma dos riscos individuais de tal forma que exista uma mudança na distribuição normal, incluindo indivíduos inespecíficos na consideração do risco. Esses dois tipos de risco são claramente relatados, mas o risco à população costuma ser considerado mais apropriado e mais sensato de ser quantificado.

A American Thoracic Society emitiu um artigo de posicionamento na tentativa de definir o que seria um efeito adverso associado à poluição do ar. Esse documento considerou sete grandes áreas: biomarcadores, qualidade de vida, efeitos fisiológicos, sintomas, resultados clínicos, mortalidade e saúde da população *versus* risco individual. Em síntese, declarou-se que deveria haver mais cautela na avaliação de muitos novos biomarcadores de efeito (em especial os marcadores celulares e moleculares), já que há a necessidade de se validar que pequenas alterações nesses marcadores representam uma progressão ao longo do curso de uma doença ou de um dano permanente. De modo notório, no meio clínico, muitos desses marcadores podem aparecer como características relevantes de uma doença ou um dano, mas as implicações à saúde de pequenas alterações nesses biomarcadores são, ainda, incertas. Uma linha condutora comum para todas essas áreas é a influência da suscetibilidade, que pode assumir a forma de hiper-responsividade ou perda da reversão. O que foi um pequeno efeito reversível pode, agora, ser uma disfunção, que não pode mais ser revertida ou compensada (Fig. 28.5). Exemplos evidentes seriam indivíduos com comprometimento cardiopulmonar, cuja função está reduzida ou quase nula.

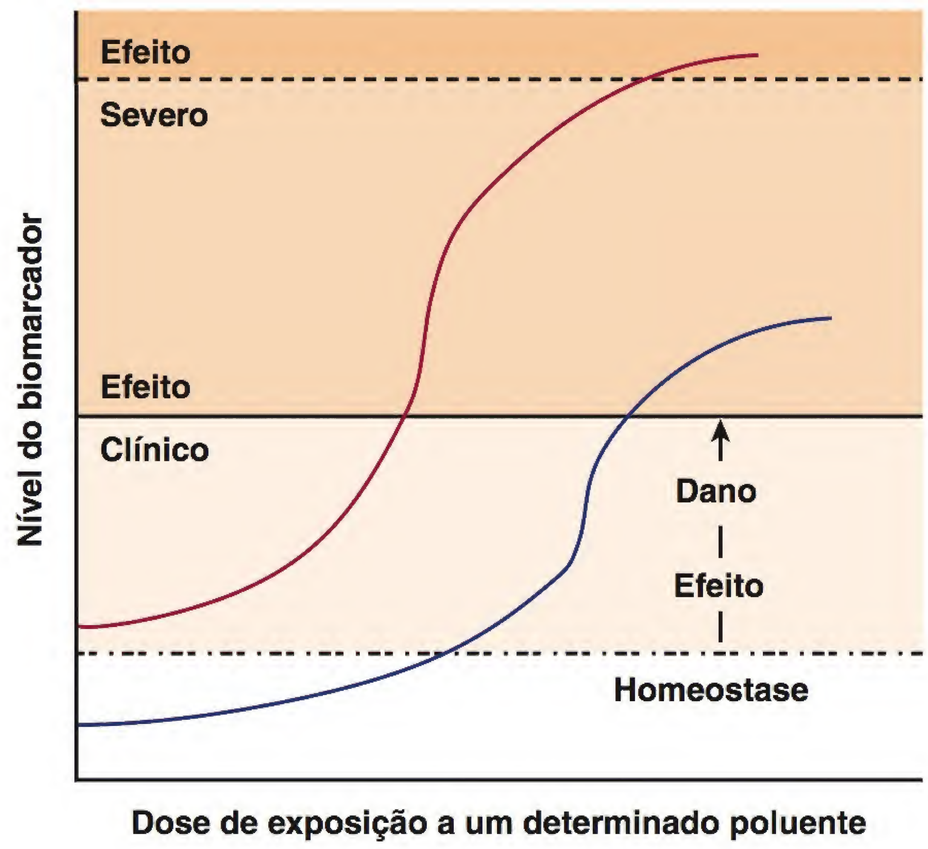


FIGURA 28.5 Ilustração esquemática dos elementos de uma curva dose-resposta de um poluente do ar para um indivíduo suscetível *versus* um indivíduo saudável. O indivíduo suscetível hipotético tem uma *perda de reserva* e uma *incapacidade em manter a homeostase*. O *deslocamento para a esquerda da inclinação* da curva dose-resposta também sugere um aumento da responsividade. Esses elementos de resposta do indivíduo suscetível podem contribuir para a aparente sensibilidade em responder e a probabilidade de progressão de efeitos sutis para severos.

CONCLUSÃO

Este capítulo apresenta a dimensão e a complexidade do problema da poluição do ar, desde o desenvolvimento de bases de dados confiáveis até o apoio a ações regulatórias e tomadas de decisão. Os clássicos e ainda mais importantes poluentes do ar fornecem uma base para se compreenderem e apreciarem as nuanças das questões e estratégias para o controle da poluição do ar e a proteção da saúde pública.

REFERÊNCIAS

Foster WM, Costa DL (eds): *Air Pollutants and the Respiratory Tract,* 2nd ed. Boca Raton: Taylor & Francis, 2005.

Vallero DA (ed): *Fundamental of Air Pollution*, 4th ed. Boston: Elsevier, 2008.

QUESTÕES

1. Qual dos compostos a seguir NÃO é um poluente oxidante do ar?
   a. NO_2
   b. SO_2
   c. O_3
   d. Radicais de hidrocarboneto
   e. Aldeídos

2. Qual dos poluentes a seguir contribui mais para o câncer de pulmão não provocado por fumo de cigarro?
   a. Asbestos
   b. Cloreto de vinil
   c. Benzeno
   d. Produtos de combustão incompleta
   e. Formaldeído

3. Inalantes, como o NO_2 e o tricloroetileno, podem aumentar a proliferação de patógenos oportunistas nos pulmões:
   a. Destruindo as células caliciformes no trato respiratório.
   b. Lesionando os septos alveolares.
   c. Inativando os cílios do trato respiratório.
   d. Matando os macrófagos alveolares.
   e. Reduzindo a resposta do sistema imune.

4. Qual das características a seguir NÃO é da toxicologia do SO_2?
   a. O SO_2 é o maior poluente do tipo redutor.
   b. A taxa de fluxo de ar aumentada resulta em aumento da quantidade de SO_2 inalado.
   c. A inalação de SO_2 causa vasoconstrição e aumento da pressão sanguínea.
   d. O SO_2 é predominantemente absorvido nas vias aéreas condutoras.
   e. A inalação de SO_2 aumenta a secreção de muco em humanos.

5. Qual das respostas abaixo seria MAIS provável de ocorrer na exposição ao ácido sulfúrico?
   a. Vasoconstrição
   b. Reduzida secreção de muco
   c. Uma resposta anti-inflamatória
   d. Vasodilatação
   e. Broncoconstrição

6. Todas as frases a seguir sobre o material particulado são verdadeiras, EXCETO:
   a. Metais são mais frequentemente liberados no meio ambiente durante a combustão de carvão e óleo.
   b. A interação de gases e partículas na atmosfera pode criar um produto mais tóxico do que somente o gás ou a partícula.
   c. A solubilidade não exerce um papel na biodisponibilidade de um metal.
   d. A crosta terrestre é uma importante fonte de magnésio atmosférico.
   e. O escape de diesel contém poluentes do ar dos tipos redutor e oxidante.

7. Qual das frases a seguir NÃO é verdadeira?
   a. O ozônio (O_3) liga-se ao radical de óxido nítrico para formar NO_2.
   b. O O_2 liga-se ao radical oxigênio para formar ozônio.
   c. O O_3 pode causar danos ao trato respiratório.
   d. O acúmulo de O_3 na estratosfera é importante para a proteção contra a radiação UV.
   e. Sabe-se que o gás Cl_2 causa degradação de O_2.

8. Qual dos sintomas a seguir NÃO é provável que ocorra após exposição ao NO_2?
   a. Aumento da secreção pelas células de Clara
   b. Edema pulmonar
   c. Falta de ar
   d. Perda das células ciliadas em bronquíolos
   e. Diminuição da resposta imunológica

9. Qual das frases a seguir sobre a exposição ao aldeído é FALSA?
   a. Os maiores poluentes de aldeído são o formaldeído e a acroleína.
   b. O formaldeído é encontrado na fumaça do cigarro, mas a acroleína não.
   c. A acroleína causa aumento da resistência ao fluxo pulmonar.
   d. A exposição ao formaldeído induz broncoconstrição.
   e. A solubilidade do formaldeído na água aumenta sua absorção nasofaríngea.

10. O monóxido de carbono (CO) exerce seus efeitos tóxicos pela interação com qual estrutura a seguir?
    a. DNA polimerase
    b. Actina
    c. Quinesina
    d. Hemoglobina
    e. Microtúbulos

CAPÍTULO

29

Ecotoxicologia

Richard T. Di Giulio e Michael C. Newman

INTRODUÇÃO

ALGUNS ASPECTOS DISTINTOS DA EXPOSIÇÃO

EFEITOS TÓXICOS

- **Efeito molecular e bioquímico**
- **Expressão gênica e ecotoxicogenômica**
  - Receptor de estrogênio
  - Receptor aril de hidrocarboneto
  - Genômica e ecotoxigenômica
  - Dano proteico
  - Estresse oxidativo
  - Dano ao DNA
- **Efeitos em células, tecidos e órgãos**
  - Células
  - Órgãos-alvo
- **Efeitos em organismos**
  - Mortalidade
  - Reprodução e desenvolvimento
  - Suscetibilidade a doenças
  - Comportamento
  - Câncer
- **População**
- **Comunidade**
- **Do ecossistema à biosfera**

ABORDAGENS

- **Testes de toxicidade**
- **Biomarcadores**
- **População**
- **Comunidade e ecossistema**
- **Da paisagem à biosfera**

AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO

INTERCONEXÕES ENTRE INTEGRIDADE DO ECOSSISTEMA E SAÚDE HUMANA

PONTOS-CHAVE

- Ecotoxicologia é o estudo da destinação e dos efeitos de agentes tóxicos em um ecossistema.
- Quimiodinâmica é, basicamente, o estudo da liberação, da distribuição, da degradação e da destinação de agentes químicos no ambiente.
- O agente químico pode ingressar em qualquer uma de quatro matrizes: na atmosfera, por evaporação, na litosfera, por absorção, na hidrosfera, por dissolução, ou na biosfera, por absorção, inalação, ou ingestão (dependendo da espécie). Uma vez na matriz, o tóxico pode migrar para outra matriz por qualquer um desses métodos.
- A *disponibilidade biológica* (ou biodisponibilidade) de um agente químico é a fração da quantidade total do agente que está potencialmente disponível para absorção por organismos.
- A poluição pode resultar em uma sucessão de eventos, começando com efeitos na homeostase dos indivíduos e estendendo-se às populações, às comunidades, aos ecossistemas e às paisagens.
- Toxicologia terrestre é a ciência da exposição a agentes tóxicos e seus efeitos nos ecossistemas terrestres.
- Toxicologia aquática é o estudo dos efeitos de agentes químicos antropogênicos nos organismos do ambiente aquático.

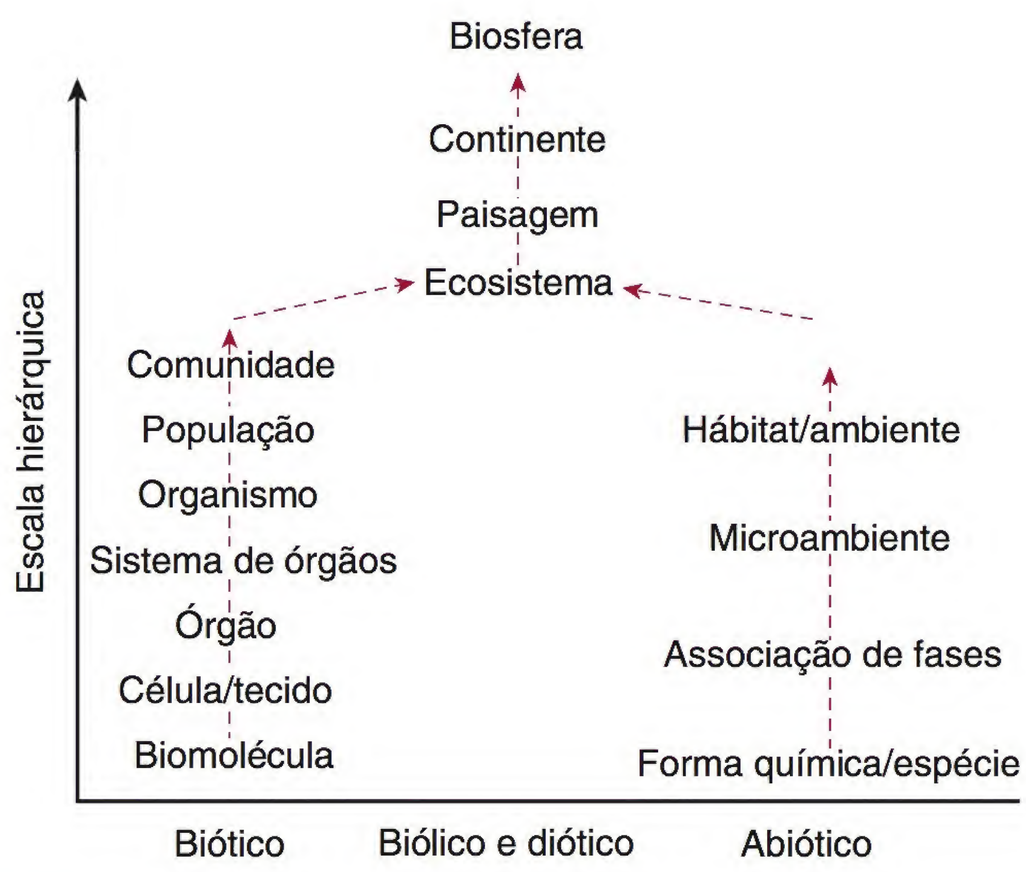


FIGURA 29.1 Escalas ecológicas relevantes para a ecotoxicologia. Escalas puramente biológicas relevantes à ecotoxicologia vão desde o nível molecular ao nível de comunidade: escalas puramente abióticas abrangem desde a espécie química ao hábitat, ou seja, o ambiente como um todo. Os componentes bióticos e abióticos são normalmente encontrados juntos em níveis organizacionais acima de comunidade ecológica e hábitat. Juntos, a comunidade ecológica e o hábitat físico-químico formam o ecossistema. Podemos considerar os sistemas ecológicos também em escala de paisagem, isto é, a combinação de sistemas, como, por exemplo, o marinho, o límnico e o terrestre em áreas estuarinas. Recentemente, as escalas biosfera e continental tornaram-se relevantes nos casos de depleção da camada de ozônio, precipitação ácida e aquecimento global.

INTRODUÇÃO

Ecotoxicologia é o estudo de contaminantes na biosfera e seus efeitos sobre os componentes desse conjunto de ecossistemas. Tem como objetivo geral explicar e predizer o efeito da exposição ou de sua ocorrência nos vários níveis de organização biológica (Fig. 29.1). Para alvos não humanos, os efeitos relevantes da exposição vão desde o nível biomolecular ao nível global. A necessidade, cada vez mais evidente, de prever os principais efeitos em populações, comunidades, ecossistemas e outras entidades biológicas em nível organizacional mais elevado tem propiciado o aparecimento de um maior número de modelos de causa-efeito, os mais apropriados aos níveis mais altos de organização biológica. Esses modelos vêm sendo adicionados ao conjunto de modelos da toxicologia convencionalmente usados pelos ecotoxicologistas pioneiros. A forma química do contaminante, a associação de fase e o movimento entre os componentes da biosfera também são temas centrais da ecotoxicologia, pois determinam a exposição, a biodisponibilidade e a dose efetiva.

ALGUNS ASPECTOS DISTINTOS DA EXPOSIÇÃO

As rotas convencionais relevantes de exposição são a ingestão, a inalação e a absorção dérmica. Vias singulares de exposição devem ser adaptadas para espécies que ingerem uma grande variedade de materiais por meio de mecanismos de alimentação diferenciados ou que respirem tanto em meio gasoso como líquido usando diferentes estruturas ou, ainda, que apresentem contato dérmico com uma variedade de substâncias nos estados gasoso, líquido e sólido.

A previsibilidade da exposição oral pode ser limitada pelo fato de as espécies alimentarem-se de diferentes materiais; entretanto, os princípios convencionais de biodisponibilidade oral continuam relevantes. Muitas técnicas aplicadas à determinação da biodisponibilidade oral para humanos estão à disposição dos ecotoxicologistas. Como exemplo, alguns pássaros estão exclusivamente expostos a um alto risco de intoxicação por chumbo pela ingestão e pelo uso das balas de chumbo como grãos. Os pássaros trituram as balas, que, no ambiente estomacal ácido, liberam quantidades significativas de chumbo dissolvido.

A estimativa da especiação química é fundamental para predizer a biodisponibilidade dos contaminantes associados à água. A especiação pode determinar a biodisponibilidade dos metais dissolvidos. A mobilidade de compostos orgânicos não iônicos e iônicos em vísceras ou brânquias é fortemente influenciada pela solubilidade lipídica e variação do pH, respectivamente. Consequentemente, a determinação da lipofilicidade de um composto ou o cálculo do grau de ionização em função do pH e pK_a facilitam a capacidade preditiva da biodisponibilidade. O modelo de atividade de íons livres (FIAM) indica que a absorção e a toxicidade de metais catiônicos em nível traço são mais bem previstas a partir da atividade ou concentração de seus íons livres, embora existam exceções.

Biodisponibilidade, bioacumulação ou concentrações de exposição para agentes tóxicos associados a sedimentos são também abordadas considerando-se a especiação química e a partição de fases. Metais em sedimentos podem ser incorporados a uma das diferentes fases sólidas do sedimento ou podem ser dissolvidos na água intersticial que envolve as partículas de sedimento. Metais biodisponíveis são estimados pela normalização das concentrações destes no sedimento com base nas concentrações de ferro e manganês facilmente extraíveis, pois ferro sólido e óxidos de manganês sequestram metais em formas sólidas que apresentam baixa biodisponibilidade.

Outra questão de grande importância para os ecotoxicologistas é a possibilidade de biomagnificação, ou seja, o aumento da concentração do contaminante conforme sua movimentação em uma cadeia alimentar. A biomagnificação pode resultar em exposições prejudiciais às espécies situadas no topo da cadeia alimentar, como aves de rapina.

EFEITOS TÓXICOS

Uma abordagem feita ao complexo tema envolvendo efeitos ecotoxicológicos é pela organização destes de acordo com o nível organizacional biológico. Os efeitos podem ser considerados em ordem crescente de nível organizacional: subcelular (molecular e bioquímico), celular, organismo, população, comunidade e ecossistema. A ecotoxicologia preocupa-se, pelo menos teoricamente, com todas as espécies e, em consonância com outros aspectos da gestão dos recursos naturais, tem como principal interesse a sustentabilidade. As políticas e regulamentações relacionadas aos efeitos dos agentes químicos em ecossistemas naturais são pau-

tadas de forma a proteger características ecológicas, tais como a dinâmica de populações, a estrutura das comunidades e as funções do ecossistema.

Efeito molecular e bioquímico

Esse nível organizacional mais baixo inclui os processos fundamentais associados à regulação da transcrição e tradução de genes, à biotransformação de xenobióticos e aos efeitos bioquímicos deletérios de xenobióticos em constituintes celulares, incluindo proteínas, lipídeos e DNA.

Expressão gênica e ecotoxicogenômica

Xenobióticos podem afetar a transcrição de genes por meio de interações com fatores de transcrição e/ou com regiões promotoras dos genes. No contexto da toxicologia ambiental, os efeitos provavelmente mais estudados dos xenobióticos envolvem os fatores de transcrição ativados por ligantes. Essas proteínas receptoras intracelulares reconhecem e unem-se a compostos específicos, formando um complexo que, então, liga-se a regiões promotoras de genes específicas, ativando a transcrição de RNAs mensageiros e, por fim, a tradução da proteína associada.

Receptor de estrogênio O estradiol (E2) é o principal ligante natural para esse receptor nuclear. A ligação entre o E2 e o receptor de estrogênio (RE) produz um complexo que pode, então, ligar-se a elementos responsivos ao estrogênio (ERE) de genes específicos que contêm um ou mais EREs, causando, assim, transcrição gênica. Genes regulados pelo complexo RE-E2 desempenham vários papéis importantes no desenvolvimento dos órgãos sexuais, no comportamento, na fertilidade e na integridade óssea.

Diversas substâncias químicas podem servir como ligantes do RE; na maioria dos casos, esses "xenoestrógenos" ativam a transcrição gênica agindo como agonistas nesses receptores. Alguns desses xenoestrógenos incluem dietilestilbestrol (DES), DDT, metoxicloro, endosulfan, surfactantes (nonilfenol), alguns PCBs, bisfenol A e etinilestradiol (E2), um estrogênio sintético encontrado em efluentes urbanos e águas superficiais. Exposições ambientais a essas substâncias são suficientes para perturbar a reprodução ou o desenvolvimento.

Receptor aril de hidrocarboneto O receptor aril de hidrocarboneto (RAH) é um membro da família de fatores receptores/transcritores bHLH-PAS (hélice-alça-hélice tipo Per ARNT-Sim) envolvidos em etapas do desenvolvimento, como sensores do meio interno e externo com o objetivo de manter a homeostase, e no estabelecimento e manutenção dos relógios circadianos. Genes específicos que são regulados pelo sistema RAH codificam as enzimas envolvidas no metabolismo de agentes químicos lipofílicos, incluindo xenobióticos orgânicos e alguns substratos endógenos, como hormônios esteroides. Essas enzimas incluem os genes CYP1A1, 1A2, e 1B1 de mamíferos e seus homólogos, glutationa transferase, glucuronosiltransferase, álcool desidrogenase e quinona oxidorredutase, em outros vertebrados.

Alguns poluentes ubíquos que atuam como ligantes do RAH e que notadamente regulam a transcrição gênica pela via de sinalização RAH-ARNT incluem os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e os hidrocarbonetos aromáticos polihalogenados (HAPs). Em geral, o tipo HAP é ligante do AHR e indutor enzimático mais potente do que os HPAs.

Genômica e ecotoxicogenômica A ecotoxicogenômica apresenta um grande potencial na elucidação dos impactos causados por agentes químicos no que concerne à ecologia e, por fim, por desempenhar um importante papel nas avaliações de risco ecológico (ARE) e na ecotoxicologia regulatória. As áreas específicas em que esse campo emergente pode contribuir incluem a priorização de agentes químicos a serem investigados em ARE, a identificação dos modos de ação de poluentes, a identificação de espécies particularmente sensíveis e a previsão de efeitos em níveis organizacionais mais elevados.

Dano proteico A acetilcolinesterase (AChE) degrada o neurotransmissor acetilcolina e controla a transmissão nervosa nas vias colinérgicas. Os organofosforados e carbamatos, classes de inseticidas amplamente utilizados, causam efeito letal pela inibição da AChE, e esse mecanismo também ocorre em organismos "não alvo", incluindo invertebrados, organismos da biota nativa e seres humanos. Constitui preocupação ecológica a ingestão acidental por aves de alimentos que contenham esses inseticidas ou formulações granuladas (confundidas com sementes ou grãos) e a exposição sofrida por animais aquáticos pela contaminação dos corpos hídricos pelo uso agrícola desses compostos. Além da inibição de enzimas, esses agentes químicos podem danificar proteínas de outras formas, por dano oxidativo e pela formação de aductos estáveis similares àqueles formados com DNA.

Estresse oxidativo O estresse oxidativo é definido como o ponto em que a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) ultrapassa a capacidade dos antioxidantes de prevenir danos. Diversos contaminantes ambientais atuam como pró-oxidantes e estimulam a produção de ERO. O dano oxidativo resultante pode ser responsável, total ou parcialmente, pela toxicidade. Os mecanismos pelos quais os agentes químicos estimulam a produção de ERO incluem o ciclo redox, as interações com as cadeias de transporte de elétrons (notadamente em mitocôndrias, microssomos, ou cloroplastos) e a fotossensibilização. Os agentes químicos com ciclo redox incluem difenóis e quinonas, nitroaromáticos e azocompostos, hidroxilaminas aromáticas, paraquat e certos quelatos metálicos, em especial de cobre e ferro.

A fotossensibilização é um mecanismo importante em sistemas aquáticos. A radiação ultravioleta (UV) (especificamente UVB e UVA) penetra nas águas superficiais e atinge profundidades variáveis, dependendo do comprimento de onda da radiação e da transparência da água. A radiação UV gera ERO e outros radicais livres por meio da excitação de agentes químicos fotossensíveis, incluindo poluentes comuns em sistemas aquáticos.

A ERO pode conduzir o estado redox de um agente químico para um estado mais oxidado, podendo acarretar em redução da viabilidade celular. Esses e outros impactos mediados por ERO têm sido associados a diversas doenças humanas, incluindo aterosclerose, artrite, câncer e doenças neurodegenerativas como Alzheimer, Parkinson e esclerose lateral amiotrófica. Com exceção do câncer, o papel de ERO em certas doenças da fauna nativa foi pouco investigado. É lógico supor que o estresse oxidativo contribui em parte com a toxicidade de diversos poluentes para organismos vivos em ambientes naturais.

Dano ao DNA O câncer é uma importante consequência à saúde associada à exposição da biota natural a agentes químicos. No contexto da ecotoxicologia, a forma de dano mais amplamente estudada é a formação de aductos de DNA estáveis, particular-

mente por HPAs. Os HPAs necessitam ser ativados a metabólitos reativos para formar esses aductos.

Efeitos em células, tecidos e órgãos

Células A maioria dos organismos de vida livre experimenta, de maneira rotineira, períodos de falta de energia. Os recursos alimentares, por exemplo, costumam ser escassos durante o inverno, e os animais adaptam-se a essa escassez conservando energia (hibernando ou diminuindo o metabolismo) ou armazenando-a com antecedência (como é o caso de muitas aves migratórias). Assim, os efeitos de poluentes sobre o metabolismo energético mitocondrial podem ser de fundamental importância para a biota natural.

Lisossomos, envolvidos na degradação de organelas e proteínas danificadas, sequestram muitos contaminantes ambientais, incluindo metais, HPAs e nanopartículas. O acúmulo de xenobióticos pelos lisossomos pode produzir dano à membrana, alertando para efeitos patológicos tanto em invertebrados como em vertebrados.

Efeitos químicos no núcleo têm sido examinados em contextos ecológicos. Micronúcleos são fragmentos cromossômicos que não são incorporados ao núcleo na divisão celular, e a exposição a agentes químicos pode aumentar significativamente sua frequência. Números elevados de micronúcleos foram observados em eritrócitos de peixes e em hemócitos de mariscos provenientes de um porto contaminado por PCBs.

Órgãos-alvo As brânquias são consideradas um órgão-alvo importante para a ecotoxicologia em vertebrados aquáticos, excluindo mamíferos, e em muitos invertebrados, já que constituem o local principal de trocas gasosas, regulação iônica, equilíbrio acidobásico e excreção de resíduos nitrogenados. As brânquias ficam imersas no meio mais importante de exposição desses animais (as águas superficiais); assim, células epiteliais metabolicamente ativas estão em contato direto com esse meio. Elas também recebem suprimento de sangue diretamente do coração. Lesões estruturais comuns em brânquias incluem morte celular (via necrose e apoptose), ruptura do epitélio, hiperplasia e hipotrofia de diferentes populações de células, podendo ocasionar fusão lamelar, inchaço epitelial e elevação do epitélio respiratório do tecido subjacente.

Efeitos em organismos

Mortalidade A poluição química ambiental, em geral, não atinge níveis suficientemente altos para matar a biota por completo. De interesse ecotoxicológico são os impactos crônicos de longo prazo promovidos por agentes químicos sobre variáveis inerentes aos organismos, como reprodução e desenvolvimento, comportamento e suscetibilidade a doenças, e como tais impactos revertem em efeitos para populações ou níveis mais elevados de organização biológica. A mortalidade, entretanto, constitui *endpoint** em estudos de exposição.

Reprodução e desenvolvimento Efeitos dos contaminantes no desenvolvimento são, em geral, difíceis de ser discernidos em estudos de campo, devido ao pequeno tamanho dos embriões e pelo fato de que impactos no desenvolvimento são, geralmente, letais ou reduzem de maneira significativa a sobrevivência. Como na maioria dos organismos as fases iniciais de vida costumam ser as mais sensíveis aos xenobióticos, impactos no desenvolvimento merecem análise cuidadosa por parte dos ecotoxicologistas.

Hidrocarbonetos clorados ainda representam uma fonte de preocupação, embora muitos (DDT e outros inseticidas e PCBs) tenham tido sua produção e utilização drasticamente reduzidas. As dioxinas (TCDD) e os PCBs coplanares comprometem, entre outros efeitos, o desenvolvimento cardíaco em vertebrados, e essas alterações de desenvolvimento são amplamente mediadas por receptores e dependentes da ligação do agente químico (como o TCDD) com o RAH.

Hidrocarbonetos, em grande parte HPAs, associados a derramamento de petróleo, a sedimentos contaminados, a efluentes de fabricação de papel e ao creosoto utilizado no tratamento da madeira causam efeitos profundos no desenvolvimento de embriões de peixe. Em muitos casos, os efeitos observados visualmente são semelhantes aos vistos em embriões expostos a dioxinas e PCBs coplanares, e incluem corações malformados ("corações tubo"), deformidades craniofaciais, hemorragia e edema do pericárdio e do saco vitelino, o último resultando na distensão do saco vitelino, que toma coloração levemente azulada, caracterizando a síndrome chamada de "doença do saco azul".

Suscetibilidade a doenças Os impactos potenciais de contaminantes ambientais em sistemas imunes que tornam os organismos mais suscetíveis a doenças são relevantes. Diversos estudos laboratoriais demonstraram os impactos de agentes químicos no sistema imune de animais de importância ecológica. Esses impactos incluem praguicidas em anfíbios, PCBs em bagres de canal, metais pesados em truta arco-íris, HPAs em bivalves e retardadores de chamas (éteres difenil polibromados) em gaviões americanos.

Comportamento Efeitos relativamente sutis em comportamentos associados a acasalamento e reprodução, forrageamento, interações predador-presa, preferência/evitação de áreas contaminadas e migração têm importância potencial em ramificações da dinâmica populacional. Em alguns casos, os mecanismos bioquímicos que levam a efeitos comportamentais foram elucidados, o que pode nos ajudar a compreender essas questões e fornecer biomarcadores úteis para substâncias tóxicas com efeitos comportamentais em estudos de campo.

Agentes químicos que causam efeitos comportamentais na biota são conhecidos por serem neurotóxicos. Foram observados efeitos comportamentais em peixes decorrentes da exposição a inseticidas. Foi observado um impacto causado por organofosforado diazinon no comportamento mediado por olfato em salmão Chinook, como, por exemplo, a resposta de alarme e a migração reprodutiva, assim como limiares semelhantes para os efeitos induzidos por outro organofosfato (clorpirifos) nos comportamentos natatórios e de alimentação e na inibição da AChE de um tipo de salmão (*O. kistich*). O mercúrio, particularmente na forma metilmercúrio, representa outro potente agente neurotóxico comprovadamente responsável por alterações comportamentais na biota natural.

Contaminantes ambientais considerados não neurotóxicos têm sido, também, associados a alterações comportamentais. O cádmio e o cobre, por exemplo, impactam de forma comprovada, neurônios olfativos e comportamentos associados (preferência/evitação a agentes químicos, incluindo os ferormônios) em vá-

* N. de T.: O termo *endpoint* será utilizado para expressar resultado médio ou observado em um ensaio toxicológico que indica ou reflete o efeito da situação testada.

TABELA 29.1 Resumo de um conjunto popular de regras para a validação da plausibilidade de associação causal em epidemiologia ecológica

Regra	Descrição
1. Força da associação	Quão forte é a associação entre causa provável e efeito. Risco relativo muito alto, por exemplo.
2. Consistência da associação	Com que consistência se apresenta a associação entre causa provável e efeito. Consistente em vários estudos em circunstâncias diferentes, por exemplo.
3. Desempenho da previsibilidade	Quão boa é a previsão do efeito com base na presença/nível da causa provável.
4. Tendência unidirecional	Quão consistente é a associação entre causa provável e efeito em relação a uma tendência unidirecional (i.e, aumento ou decréscimo consistente no nível do efeito/prevalência com o aumento de exposição).
5. Sequência temporal inconsistente	O efeito, ou nível elevado de efeito, ocorre antes da causa hipotética.
6. Improbabilidade real	A associação hipotética é improvável com base em conhecimento preexistente.
7. Inconsistência na replicação	Reprodutibilidade muito baixa da associação em avaliações de campo repetidas envolvendo diferentes circunstâncias ou testes formais de laboratório.

rias espécies de peixes. A exposição de peixes paulistinhas a cobre também provocou perda de neurônios do sistema periférico mecanossensorial ("linha lateral"), o que pode levar a comportamentos alterados associados à formação de cardumes, à evitação de predadores e à reotaxia (alinhamento físico de peixes em uma corrente). Vários mecanismos de toxicidade química podem claramente resultar em impactos comportamentais, incluindo toxicidade direta a neurônios, alterações em hormônios que modulam comportamento e metabolismo energético alterado. Além disso, um comportamento alterado pode constituir um impacto subletal com consequência ecológica real.

Câncer A partir de 1960, foram relatados, na América do Norte e na região norte da Europa, diversos casos de epizootias de câncer em organismos da biota natural associados com a poluição química, em particular em populações de peixes. Como nos seres humanos, o câncer em animais ocorre principalmente nas faixas etárias relativamente mais altas e, portanto, é, muitas vezes, considerado uma doença que não afeta diretamente a dinâmica populacional ou outros parâmetros ecológicos. No entanto, esse não é sempre o caso, sobretudo em espécies que requeiram muitos anos para atingir a maturidade sexual e/ou tenham baixas taxas reprodutivas.

O estilo de vida é um dos principais contribuintes para a suscetibilidade diferenciada ao câncer; espécies bentônicas (que vivem no fundo), como os peixes *Ameriurus nebulosus* e *Catostomus commersoni*, em sistemas de água doce, e *Parophrys vetulus* e *Pseudopleuronectes americanus*, em sistemas marinhos, geralmente apresentam as maiores taxas de neoplasias em locais poluídos. Nesses sistemas, a maior parte dos produtos químicos associados à epizootia de câncer, tais como HPAs, PCBs e outros compostos halogenados, reside nos sedimentos; peixes bentônicos vivem em contato com o sedimento e predam, em grande parte, outros organismos bentônicos.

É notável que elevadas taxas de câncer relatadas para animais de vida livre ocorram em peixes, havendo, ao que se sabe poucos relatos de câncer quimicamente relacionado em outros vertebrados. É provável que exposições elevadas desempenhem um papel importante na frequência relativamente alta de relatos da doença em peixes bentônicos; a sensibilidade relativa inerente em mamíferos, aves, répteis, anfíbios e peixes ainda não é clara.

População

População é um grupo de indivíduos pertencentes à mesma espécie que interagem em determinada área. Pressupõe a troca de informação genética entre seus componentes. A ecotoxicologia populacional cobre um vasto número de tópicos voltados para os seguintes temas principais: (1) epidemiologia de doenças relacionadas a agentes químicos; (2) efeitos em determinadas qualidades populacionais gerais, como taxas demográficas e persistência; e (3) genética populacional.

O nível de confiabilidade garantido para efeitos relacionados a contaminantes em populações não humanas é avaliado pela aplicação dos métodos rotineiros da epidemiologia. Regras provenientes da epidemiologia humana para se medir o nível de confiabilidade garantido por evidências são, também, aplicadas em ecotoxicologia populacional (Tab. 29.1).

As densidades populacionais de algumas espécies flutuam dentro de certos limites. Essas flutuações são características da estratégia da espécie para se manter em vários tipos de hábitat, porém, a exposição a substâncias tóxicas pode, em teoria, alterar esses limites. Combinadas a decréscimos populacionais ocasionados por forças externas, tais como eventos climáticos, as alterações na densidade média e na dinâmica populacionais induzidas por agentes tóxicos podem aumentar o risco de as densidades populacionais caírem a tal ponto que extinções locais ocorram. Substâncias tóxicas podem alterar taxas populacionais vitais, como mortalidade dependente de idade e sexo, natalidade, maturação e migração. Combinadas, essas alterações determinam a densidade e a distribuição dos indivíduos em classes etárias e de sexo durante a exposição.

Indivíduos da mesma espécie estão normalmente agrupados em subpopulações dentro de um hábitat, e subpopulações juntas compõem uma metapopulação (Fig. 29.2). Subpopulações de uma metapopulação apresentam níveis diferentes de troca e taxas vitais que dependem da natureza de seu hábitat. Distâncias e obstáculos ou corredores influenciam as migrações entre fragmentos; a qualidade do hábitat determina as taxas vitais.

A genética de populações expostas é estudada para o entendimento das alterações do grau de tolerância a agentes tóxicos e para documentar a influência destes em populações naturais. Algumas populações têm a capacidade de tornarem-se mais to-

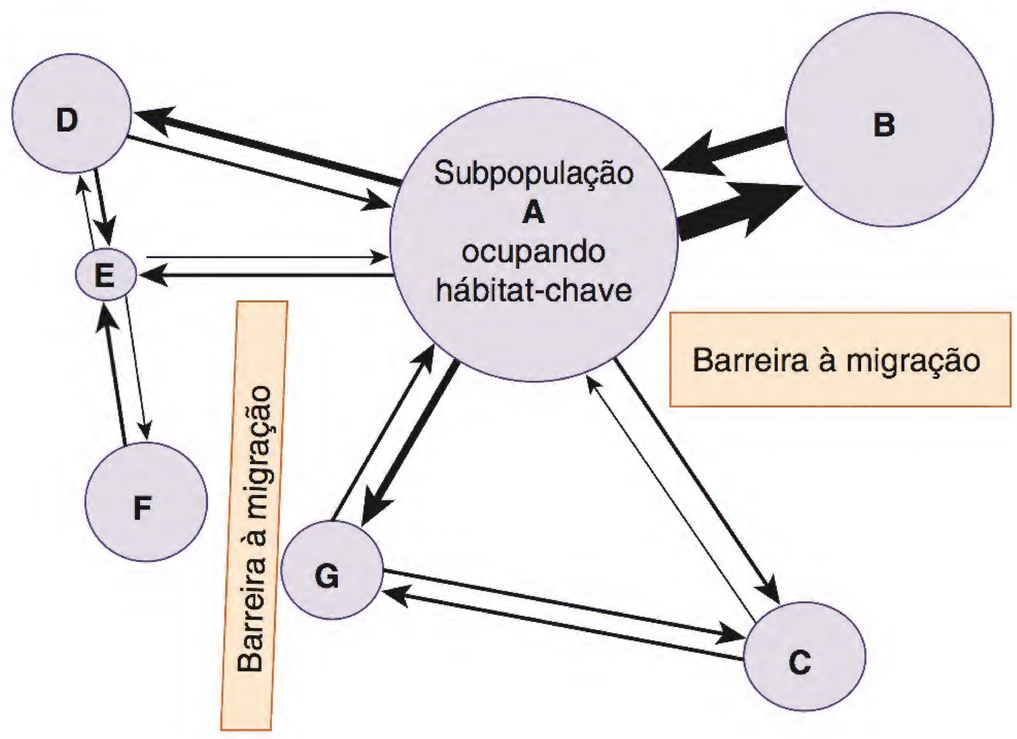


FIGURA 29.2 As metapopulações são compostas por subpopulações que diferem em taxas vitais e tendência para troca de indivíduos. Na ilustração, a subpopulação A ocupa um hábitat-chave. A perda da subpopulação A seria devastadora para a metapopulação. A perda do corredor de migração entre as subpopulações A, B e D também teria efeitos devastadores para a metapopulação. Em contraste, a perda da subpopulação F não influenciaria a metapopulação no mesmo grau.

lerantes a agentes tóxicos via seleção. Qualidades genéticas também são usadas para inferir influência tóxica pretérita em populações expostas. Uma alteração na diversidade genética é outra evidência demonstrativa de influência pretérita. Uma queda na diversidade genética de uma população é vista como um efeito adverso, já que a diversidade genética é necessária para que, evolutivamente, as populações se adaptem a mudanças ambientais. Substâncias tóxicas podem influenciar a diversidade genética por meios puramente estocásticos.

Comunidade

Uma comunidade ecológica é uma assembleia de populações interativas ocupando um hábitat definido em um tempo determinado. Populações de uma comunidade interagem de várias maneiras, e, como essas interações são complexas, a comunidade apresenta propriedades que não são previstas pela simples análise de seus componentes populacionais.

Comunidades apresentam características estruturais previstas pela Lei das Frequências: o número de organismos individuais em uma comunidade é relacionado, por alguma função, ao número de espécies de uma comunidade. Agentes ecotóxicos podem alterar a estrutura da comunidade resultante de maneiras previsíveis, seja pelo impacto direto na aptidão (*fitness*) dos indivíduos das populações que compõem a comunidade, seja por alteração nas interações entre populações.

Recentemente, qualidades estruturais e funcionais de comunidades têm sido reunidas para gerar índices multimétricos, como o Índice de Integridade Biótica (IBI). O discernimento ecológico deve ser empregado para a seleção e a reunião de qualidades da comunidade, tais como riqueza específica, saúde dos indivíduos amostrados e número de indivíduos em uma amostra pertencente a determinado grupo funcional, como, por exemplo, número de peixes piscívoros. O escore do IBI para determinado local é calculado e comparado com aquele esperado em regiões não impactadas, a fim de estimar a integridade biológica local.

Outro tema central em ecotoxicologia de comunidade é a transferência dos agentes tóxicos durante as interações tróficas. A concentração do tóxico pode diminuir (biorredução), permanecer constante ou aumentar (biomagnificação) com cada transferência trófica na rede alimentar. Metais que sofrem biomagnificação são o mercúrio e os metais alcalinos, césio e rubídio. O zinco, um metal essencial regulado ativamente em indivíduos, pode exibir biomagnificação ou biorredução, dependendo dos níveis ambientais estarem abaixo ou acima daqueles necessários para que o organismo funcione de maneira adequada.

A maioria dos indivíduos de uma comunidade pode alimentar-se de diferentes espécies dependendo de seu estágio de vida, estação do ano e abundância relativa da população de presas. Essas interações tróficas são mais bem descritas como redes, e não cadeias tróficas.

Do ecossistema à biosfera

Ecossistemas, unidades funcionais da ecologia, são constituídos pela comunidade ecológica e pelo seu hábitat abiótico. O ecotoxicologista está interessado em compreender como substâncias tóxicas diminuem a capacidade do ecossistema de realizar funções essenciais e em conhecer, de maneira suficiente, a movimentação dos agentes tóxicos dentro dos diferentes componentes ecossistêmicos para avaliar a exposição.

Estudos ecossistêmicos convencionais envolvem a descrição das concentrações e movimentações de contaminantes em sistemas facilmente definíveis, tais como lagos, florestas, campos. Alguns agentes tóxicos, em especial aqueles submetidos a ampla dispersão por ar ou água, não podem ser completamente entendidos nesse contexto; logo, a escala de paisagem deve ser usada. Como exemplo, a precipitação ácida pode ser avaliada no contexto de uma bacia hidrográfica, uma cadeia de montanhas ou uma região continental. Outros agentes ecotóxicos necessitam de análise em contexto global para a compreensão precisa de sua movimentação e acumulação, como, por exemplo, a clara gradação latitudinal apresentada pelas concentrações de hexaclorobenzeno em cascas de árvores coletadas ao redor do mundo.

ABORDAGENS

Testes de toxicidade

O teste de toxicidade com animais e plantas representativos de diferentes níveis de organização oferece uma abordagem prática para a caracterização dos efeitos de agentes químicos em sistemas biológicos. Testes de toxicidade lidam com o efeito potencial direto de agentes tóxicos em componentes individuais do ecossistema, de maneira controlada e reprodutível. Eles utilizam uma grande variedade de espécies aquáticas (incluindo algas, invertebrados, girinos, bivalves, camarões e peixes), de aves (codorna, pato) e terrestres (microrganismos do solo, espécies cultiváveis, abelhas melíferas, minhocas e mamíferos silvestres). As espécies são selecionadas não só com base na facilidade de seu uso como animais de laboratório, mas também em sua relevância ecológica, o que complica ainda mais a harmonização global dos ensaios ecológicos. Além disso, ensaios com espécies aquáticas exigem monitoramento da qualidade da água, investigação da solubilidade e estabilidade da substância-teste em condições experimentais

e determinação das concentrações nominais em contraste com as concentrações medidas.

Em testes de toxicidade aguda, uma única espécie é exposta a várias concentrações do agente a ser testado, e o *endpoint* mais utilizado é a morte. Comportamento anormal e outras observações gerais são regularmente anotados, e *endpoints* não letais são, às vezes, utilizados. Dados de concentrações-teste diferentes são usados para a derivação de curvas de concentração-resposta. A CL_{50} representa a concentração da substância testada que mata 50% dos animais testados; a CE_{50} corresponde à concentração da substância testada que afeta negativamente 50% da população-teste durante determinado período, como o crescimento, por exemplo; e a IC_{50} é a concentração que causa 50% de redução em medidas não quantificáveis da população (p. ex., movimento). Outros valores quantitativos são a menor concentração que causa efeito (LOEC*), ou seja, a menor concentração na qual um efeito é observado, e a concentração na qual não se observa efeito (NOEC*), a mais alta concentração em que efeitos adversos não ocorrem.

Estudos de curta duração em laboratório, conduzidos com uma única espécie, são úteis para uma avaliação preliminar rápida, pois fornecem informações sobre limites para aparecimento de efeitos adversos, toxicidade comparativa e seletiva, e podem ser usados para estabelecer concentrações a serem utilizadas em estudos subsequentes e, em geral, mais complexos. Estudos de longa duração e de reprodução avaliam os efeitos de substâncias em organismos ao longo de períodos de tempo extensos e/ou gerações sequenciais (toxicidade crônica, ciclo de vida e reprodução).

Os estudos de campo, os mesocosmos e os microcosmos mais elaborados são singulares na ecotoxicologia. Microcosmos são representações de ambientes aquáticos ou terrestres criados em condições laboratoriais que incluem um número relevante de espécies (tais como protozoários, plâncton, algas, plantas e invertebrados). Estudos de campo simulados e mesocosmos podem ser criados tanto em laboratório como em ambiente externo (p. ex., lagos e fontes artificiais) ou consistir de uma área cercada no próprio hábitat, contendo solo, água ou biota representativa. Mais recentemente, estudos de campo em grande escala (organismos aquáticos, vida silvestre terrestre e agentes polinizadores) avaliam os efeitos de determinada substância na biota em cenários reais de uso do produto (p. ex., uso de pesticida no campo) e são, portanto mais complicados, sujeitos a variabilidade considerável, e requerem vasto conhecimento da dinâmica da comunidade e das populações locais.

Por fim, estudos com plantas são um componente significativo de ensaios de ecotoxicidade, particularmente requeridos para o registro de pesticidas, envolvendo o teste da área-alvo e de plantas terrestres e aquáticas não alvo.

Biomarcadores

O termo "biomarcador" costuma ser empregado para se referir às respostas a nível orgânico, fisiológico e molecular ante a exposição aos contaminantes passíveis de quantificação em organismos do ambiente natural ou deste capturados. Biomarcadores não fornecem informações concernentes diretamente aos impactos em níveis organizacionais mais complexos, nos quais a ecotoxicologia pretende, em última análise, atuar. Entretanto, eles fornecem, com frequência, ferramentas auxiliares para o discernimento da exposição aos contaminantes e seus potenciais impactos de importância ecológica. Fornecem, também, sinais precoces de alerta quanto a danos ecológicos incipientes.

A especificidade química entre biomarcadores é, também, altamente variável e sujeita a decisões de custo-benefício. Muitos biomarcadores são invasivos e requerem sacrifício do organismo analisado para a obtenção do tecido necessário. Isso pode ser problemático, particularmente em casos envolvendo espécies raras ou carismáticas, como mamíferos aquáticos. Nesses casos, e em outros, quando possível, o uso de biomarcadores não invasivos é preferido ou necessário. Biomarcadores podem fornecer ferramentas poderosas no alerta precoce de danos ecológicos, na avaliação de contaminação ambiental e na determinação da eficácia de decisões de gerenciamento ambiental, tais como procedimentos de recuperação de áreas contaminadas. Entretanto, uma análise cuidadosa de cada caso é necessária para a escolha do biomarcador adequado.

População

Pesquisas demográficas podem ser feitas em populações expostas. Alguns estudos exploram taxas vitais relacionadas a uma faixa etária específica, mas outros são delineados para explorar taxas vitais em diferentes faixas etárias, tais como neonatos, filhotes em fase de plumagem, jovens e adultos. A maior parte das pesquisas resulta em conjuntos de dados que podem ser avaliados de maneira vantajosa por meio da análise de uma simples tabela de vida ou de matrizes mais complexas. O método de matriz permite a descrição do estado da população e também a compreensão da sensibilidade aos efeitos nas taxas vitais em diferentes faixas etárias. O valor desses estudos é determinado pela habilidade de integrar efeitos de diferentes fatores em uma projeção das consequências futuras para a população. Estudos demográficos estão se tornando mais comuns na ecotoxicologia, especialmente com espécies de fácil manipulação laboratorial.

Estudos convencionais de aumento de tolerância após exposição por várias gerações e pesquisas genéticas em populações expostas são as principais abordagens feitas na avaliação de consequências genéticas. O aumento de tolerância é, em geral, detectado submetendo-se indivíduos de população cronicamente exposta e indivíduos de população não exposta ao agente tóxico testando diferenças no grau de tolerância. Alterações associadas ao mecanismo de tolerância podem ser examinadas alternativamente em populações cronicamente expostas e em não expostas. Um exame detalhado da genética populacional associado ao hábitat contaminado também é usado para inferir consequências da exposição por várias gerações.

Comunidade e ecossistema

A maioria dos estudos de efeitos em comunidade e ecossistema usa métodos modificados desenvolvidos pela ecologia de comunidade e sistemas. A abordagem que proporciona maior controle e reprodutibilidade de tratamentos envolve a criação de microcosmos em laboratório. O microcosmo é um sistema simplificado que supostamente apresenta as qualidades de interesse da comunidade ou do ecossistema considerado. O controle experimental e a reprodutibilidade associada a microcosmos são conseguidos à custa do realismo ecológico. Ao se adotarem me-

* N. de T.: As siglas LOEC e NOEC devem ser interpretadas como LOA-EC (menor concentração testada que causa efeito adverso) e NOAEC (maior concentração testada que não causa efeito adverso) para caracterizar efeitos adversos que são os efeitos de interesse em ocotoxicologia.

socosmos externos na ecotoxicologia de comunidade e ecossistemas, ganha-se em realismo o que se perde em maneabilidade. Mesocosmos são sistemas experimentais maiores e geralmente construídos no campo, os quais tentam simular algum aspecto de um ecossistema, tal como a composição em espécies da comunidade. Estudos de campo constituem o terceiro modo pelo qual se podem explorar efeitos em nível de comunidade ou ecossistema. O alto realismo de seus resultados contrapõe-se à dificuldade de obtenção de réplicas verdadeiras e de suficiente controle sobre outros fatores que possam estar influenciando as respostas do sistema. Estudos de campo podem envolver manipulações experimentais, como a introdução de agentes tóxicos em corpos hídricos; entretanto, a grande maioria lida com o monitoramento de sistemas sabidamente impactados.

Da paisagem à biosfera

É essencial o domínio de tecnologia para adquirir, processar e analisar grandes quantidades de dados. Arquivos e novas imagens de satélites e plataformas de altitude são, agora, integrados pelo *software* GIS (sistema de informação geográfica universal). Dados de sensoriamento remoto provenientes de satélites ou aeronaves fornecem informação sobre grandes áreas. Redes emergentes de observação de solo e água vêm rapidamente criando uma rica fonte de dados.

AVALIAÇÃO DO RISCO ECOLÓGICO

A ARE aplica o conhecimento ecotoxicológico no apoio ao processo de decisão ambiental. Agentes tóxicos amplamente dispersos, como precipitação ácida, ou produtos largamente utilizados, como herbicidas, podem necessitar de uma avaliação de risco em escala de paisagem ou de subcontinente. Agentes tóxicos que requeiram ARE global incluem os gases de efeito estufa que contribuem para o aquecimento global, os hidrofluorcarbonetos que exaurem a camada de ozônio e os poluentes orgânicos persistentes que são acumulados em concentrações nocivas em regiões polares muito distantes de seus pontos de emissão em latitudes industriais.

Adaptações são realizadas de acordo com o contexto da ARE. Algumas tratam de situações existentes. Informações de campo, nesse caso, são abundantes para as ARE ditas retroativas, e métodos epidemiológicos podem ser empregados vantajosamente. Em contraste, as ARE preventivas avaliam a possibilidade de risco associado a futura ou potencial exposição a um tóxico.

A caracterização da exposição descreve ou prevê o contato entre o tóxico e o *endpoint* avaliado. Dependendo do contexto da ARE, isso pode envolver um simples cálculo da exposição média ou a descrição temporal e espacial clara das quantidades presentes no meio considerado. As fontes do agente tóxico, as vias de transporte, os tipos de contato e coestressores potenciais são, também, definidos.

A caracterização dos efeitos ecológicos descreve a qualidade de qualquer efeito potencial de interesse, a conexão entre efeitos potenciais e a avaliação do *endpoint* e como alterações no nível de exposição podem influenciar os efeitos manifestados na avaliação do *endpoint*. É habitual, para a caracterização dos efeitos ecológicos, a elaboração de uma declaração sobre a força das evidências associada às descrições e às incertezas.

INTERCONEXÕES ENTRE INTEGRIDADE DO ECOSSISTEMA E SAÚDE HUMANA

É importante que sejam consideradas as interconexões entre saúde humana e integridade ecológica, ou saúde ecológica. Pela determinação de como as substâncias químicas ou os estressores antropogênicos degradam ecossistemas e impactam o bem-estar e a saúde humana, e vice-versa, obtém-se um entendimento holístico dos efeitos da contaminação ambiental. Um modelo conceitual, por exemplo, tenta elucidar as interconexões entre o sistema natural e o social de uma maneira circular com *feedback* contínuo. O sistema natural produz para o social tanto desfechos positivos (recursos naturais e matéria-prima bruta) como negativos (furacões e vetores de doenças). A cultura e a instituição do sistema social, por sua vez, transformam os desfechos do sistema natural de modos variados e entregam, subsequentemente, desfechos positivos (bens de consumo e esforços de conservação) e negativos (poluição e desmatamento). Esses desfechos influenciam a quantidade e a qualidade de vida (humana ou não) do sistema natural, e o fluxo circular de recursos cria continuamente condições que influenciam o bem-estar de indivíduos, sociedades e ecossistemas.

Esse modelo, bastante abstrato, formaliza as interconexões, algumas bastante óbvias, entre saúde humana e ecológica, intuitivas para a maioria de nós. A contaminação química dos alimentos de origem marinha apreciados pelo homem é um exemplo. Outros exemplos, menos claros, mas potencialmente muito significativos, são as intervenções humanas nos sistemas aquáticos que estimulam a propagação de vetores de doenças, que atingem, por sua vez, o próprio homem, e as intervenções do homem no clima global, que, ao mesmo tempo, intervem de modo complexo e variado tanto homens como ecossistemas. A colaboração de pesquisadores das áreas biomédica, ambiental e social, aliada aos responsáveis pelas diretrizes políticas, catalisará a proteção integrada da saúde humana e ecossistêmica.

REFERÊNCIAS

Benson WH, Di Giulio RT (eds): *Emerging Molecular and Computational Approaches for Cross-species Extrapolations*. New York: Taylor & Francis, 2006.

Newman MC (ed): *Fundamentals of Ecotoxicology*, 3rd ed. Boca Raton: CRC Press, 2009.

Walker, CH, Hopkin SP, Sibly RM, Peakall DB: *Principles of Ecotoxicology*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2006.

QUESTÕES

1. Qual o modo de entrada de agentes químicos na litosfera?
   a. Evaporação
   b. Adsorção
   c. Dissolução
   d. Absorção
   e. Difusão

2. A biodisponibilidade de contaminantes na hidrosfera é diretamente relacionada com:
   a. Concentração química
   b. Quantidade de agentes químicos
   c. Solubilidade em água do agente químico
   d. Toxicidade do agente químico
   e. Tamanho molecular do agente químico

3. Todos os biomarcadores a seguir são verdadeiros, EXCETO:
   a. A absorção pela derme é considerada como dose externa.
   b. Biomarcadores de sensibilidade são úteis nas extrapolações feitas de doenças da fauna silvestre para doenças humanas.
   c. A indução de certas enzimas é um biomarcador importante.
   d. A dose biologicamente efetiva é a dosagem interna que leva a determinado efeito.
   e. Os efeitos da exposição química podem ser diferentes conforme a espécie.

4. Qual dos seguintes processos é MENOS provável de ser afetado por agentes interruptores endócrinos?
   a. Atividade enzimática
   b. Transcrição
   c. Secreção hormonal
   d. Transdução de sinal
   e. Replicação de DNA

5. A exposição ao estrogênio causa, como demonstrado, algumas reações em espécies silvestres listadas a seguir, EXCETO:
   a. De caráter sexual
   b. Níveis alterados de hormônios sexuais
   c. Supressão imunológica
   d. Malformações gonadais
   e. Reversão sexual

6. Em relação à ecotoxicologia terrestre, qual a afirmação FALSA?
   a. Organismos terrestres são geralmente expostos a contaminantes via ingestão.
   b. A predação é uma importante fonte de perplexidades e enganos em avaliações de dados ecotoxicológicos de campo.
   c. Testes reprodutivos não são importantes na mensuração de *endpoints* em testes de toxicidade.
   d. Estudos de cerco são mais eficientes em termos de controle de fatores ambientais em estudos de campo.
   e. Testes de toxicidade geralmente avaliam os efeitos de dosagens químicas orais.

7. Um importante tipo(s) de composto(s) que é/são mais tóxico(s) em água do que em ar é/são:
   a. Compostos orgânicos
   b. Fotoquímicos
   c. Vapores
   d. Xenobióticos lipossolúveis
   e. Metais

8. Quais, entre os listados, são usados como *endpoint* para registro de toxicidade em testes de toxicidade aquáticos?
   a. DL_{50} e DE_{50}
   b. CL_{50} e CE_{50}
   c. testes reprodutivos
   d. DL_{50} e CL_{50}
   e. DL_{50} e CE_{50}

9. Disponibilidade biológica é:
   a. A quantidade total de um agente químico dentro de um organismo.
   b. A concentração de um agente químico em um reservatório natural.
   c. A concentração limite de um agente químico necessária para causar efeito tóxico.
   d. A concentração de um agente químico dentro do organismo.
   e. A proporção do agente químico potencialmente disponível para tomada.

10. A quimiodinâmica NÃO estuda:
   a. O destino de agentes químicos no ambiente
   b. A taxa de metabolização de agentes químicos
   c. A distribuição de agentes químicos no ambiente
   d. A concentração de agentes químicos em organismos
   e. A liberação de agentes químicos para o ambiente

UNIDADE VII ÁREAS DE APLICAÇÃO DA TOXICOLOGIA

CAPÍTULO

30

Toxicologia Aplicada a Alimentos

Frank N. Kotsonis e George A. Burdock

PECULIARIDADES DA TOXICOLOGIA APLICADA A ALIMENTOS

Natureza e complexidade dos alimentos

Importância do sistema digestório

PADRÕES DE SEGURANÇA APLICADOS A ALIMENTOS, INGREDIENTES DE ALIMENTOS E CONTAMINANTES

Legislação estadunidense relacionada a alimentos, medicamentos e cosméticos – *The food, drug, and cosmetic* act (FD&C Act)

Métodos utilizados na avaliação da segurança de alimentos, ingredientes de alimentos e contaminantes

Avaliação da segurança de aditivos diretos (ou intencionais) e corantes em alimentos

Exposição: estimativa da ingestão diária

Estabelecimento de nível de alerta e testes requeridos

Determinação da segurança de aditivos indiretos (ou não intencionais) em alimentos

Requisitos de segurança para substâncias GRAS

Importância do conceito GRAS

Políticas utilizadas no tratamento de plantas transgênicas (e novas variedades de plantas)

Nanotecnologia

Requisitos de segurança relacionados a suplementos dietéticos

Avaliação de substâncias carcinogênicas

Carcinogenicidade: um problema especial associado a alimentos

SEGURANÇA ALIMENTAR

Reações adversas a alimentos ou a seus ingredientes

ESTABELECIMENTO DE LIMITES DE TOLERÂNCIA PARA SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EM ALIMENTOS

Resíduos de praguicidas

Medicamentos utilizados na produção animal

Contaminantes inevitáveis

SUBSTÂNCIAS PARA AS QUAIS NÃO SÃO ESTABELECIDOS LIMITES DE TOLERÂNCIA

Toxinas produzidas por peixes, mariscos e tartarugas

Agentes microbianos

Encefalopatia espongiforme bovina

CONCLUSÃO

PONTOS-CHAVE

- Alimentos são misturas extremamente complexas de substâncias constituídas por componentes com valor nutricional e não nutricional.
- Uma substância "geralmente reconhecida como segura" (GRAS) obtém esse nível de adequação de segurança por meio de procedimentos científicos ou por experiência com base no uso comum.
- A ingestão diária estimada (ou teórica) (IDE/IDT) de determinada substância baseia-se em dois fatores: na ingestão diária do alimento do qual a substância faz parte e na concentração da substância no alimento.
- A hipersensibilidade a alimentos (alergia) refere-se a reações que envolvem resposta imunológica, incluindo reações cutâneas, efeitos sistêmicos e até mesmo anafilaxia.
- A grande maioria das doenças causadas por alimentos em países em desenvolvimento é atribuível a contaminações microbiológicas.

PECULIARIDADES DA TOXICOLOGIA APLICADA A ALIMENTOS

A própria natureza do alimento é responsável pelas peculiaridades da área da toxicologia aplicada a alimentos. Eles não podem ser comercialmente produzidos em ambientes com controles restritos de qualidade e, portanto, não atingem padrões rigorosos de pureza, identidade química e boas práticas de fabricação possíveis de serem estabelecidos para a maioria dos produtos industrializados. O fato de o alimento ser cultivado em solo, tratado com águas salgadas ou doces ou derivar de animais sujeitos a forças imprevisíveis da natureza impossibilita sua uniformidade e padronização. Os alimentos são mais complexos e de composição mais variável do que todas as outras substâncias às quais os seres humanos se expõem, e estes se expõem mais a alimentos do que a qualquer outra substância química!

Natureza e complexidade dos alimentos

Os alimentos são misturas extremamente complexas, tanto se consumidos na forma natural, ou não processada, quanto na forma altamente processada, como os alimentos prontos para consumo. As substâncias sem valor nutricional (substâncias outras que não carboidratos, proteínas, gorduras, vitaminas e minerais) podem ser incorporadas aos alimentos a partir do seu processamento, mas em geral a própria natureza fornece a grande maioria de constituintes sem valor nutricional contida nos alimentos. A Tabela 30.1 indica que alimentos naturais ou minimamente processados contêm muito mais substâncias sem valor nutricional do que constituintes com valor nutricional.

TABELA 30.1 Substâncias sem valor nutricional em alimentos

Alimentos	Número de substâncias químicas identificadas como não tendo valor nutricional
Queijo *cheddar*	160
Suco de laranja	250
Banana	325
Tomate	350
Vinho	475
Café	625
Bife (cozido)	625

Fonte: Smith RL: Does one man's meat become another man's poison? *Trans Med Soc Lond* (Novembro 11): 6, 1991. Com permissão da Medical Society of London.

Importância do sistema digestório

Os constituintes de alimentos e outros tipos de substância ingeridas (p. ex., medicamentos, contaminantes e poluentes inaláveis dissolvidos na saliva e deglutidos) são heterogêneos em termos de características físico-químicas, e os mecanismos básicos de absorção intestinal são a difusão passiva ou simples, o transporte ativo, a difusão facilitada e a pinocitose. Cada um desses mecanismos tem características próprias que permitem o transporte de um grupo definido de constituintes do lúmen para o interior do organismo (Tab. 30.2).

TABELA 30.2 Sistemas de transporte dos constituintes entéricos

Sistema	Constituintes entéricos
Difusão passiva	Açúcares (p. ex., frutose, manose e xilose, que podem também ser transportadas por difusão facilitada), compostos lipossolúveis, água
Difusão facilitada	D-xilose, 6-desoxi-1,5-anidro-D-glucitol, ácido glutâmico, ácido aspártico, ácidos graxos de cadeia curta, xenobióticos que apresentam grupos carboxilas, sulfatos, ésteres de glicuronida, chumbo, cádmio, zinco
Transporte ativo	Cátions, ânions, açúcares, vitaminas, nucleosídeos (pirimidinas, uracil e timina, que podem competir com o 5-fluorouracil e 5-bromouracil), cobalto, manganês (que compete pelo sistema de transporte do ferro)
Pinocitose	Lipídeos de cadeia longa, complexo da vitamina B_{12}, corantes azoicos, anticorpos maternos, toxina botulínica, hemaglutininas, faloidinas, endotoxinas da *E. coli*, partículas virais

PADRÕES DE SEGURANÇA APLICADOS A ALIMENTOS, INGREDIENTES DE ALIMENTOS E CONTAMINANTES

Legislação estadunidense relacionada a alimentos, medicamentos e cosméticos – The food, drug, and cosmetic act (FD&C Act)

Esta legislação presume que os alimentos tradicionalmente comercializados nos Estados Unidos são seguros se não contiverem contaminantes. A Food and Drug Administration (FDA), para banir o uso de alimentos que contenham contaminantes, exige evidências conclusivas de que seu consumo não pode resultar em morte ou doença. O FD&C Act permite adicionar ao alimento substâncias que confiram propriedades técnicas características se substâncias forem consideradas "geralmente reconhecidas como seguras" (GRAS). Essa legislação exige que especialistas nessa área da ciência decidam se uma substância pode ser ou não considerada GRAS com base em dados de segurança, demonstrados por métodos científicos, ou por experiência baseada no uso comum da substância. Quando um alimento contém um contaminante cuja presença seja inevitável, mesmo quando produzido a partir das Boas Práticas de Fabricação ou Manufatura (BPF ou BPM) atualizadas, esse alimento deve ser considerado inadequado para uso, uma vez que o contaminante pode comprometer a saúde de quem o ingira. Esses alimentos não são automaticamente banidos, mas a FDA estabelece alguns limites informais (denominados níveis de ação) para quantidades toleráveis desse tipo de contaminante.

Além de permitir a presença de substâncias consideradas GRAS em alimentos, a FDA também aceita que aditivos, que devem ser aprovados e regulamentados para usos específicos, estejam presentes. Existem dois tipos de corantes permitidos como aditivos em alimentos: os que necessitam de aprovação dos analistas da FDA e aqueles que são isentos dessa aprovação. A maior parte dos corantes aprovados para uso em alimentos é identificada com o prefixo FD&C (p. ex., o corante FD&C Azul nº 1). Esses corantes apresentam estruturas que dificilmente podem ser sintetizadas sem que apresentem diversas impurezas; desse modo, devem ser cuidadosamente controlados e certificados como seguros antes de serem utilizados em produtos comestíveis. Os corantes isentos de aprovação derivam basicamente de fontes naturais.

Métodos utilizados na avaliação da segurança de alimentos, ingredientes de alimentos e contaminantes

Avaliação da segurança de aditivos diretos (ou intencionais) e corantes em alimentos A segurança de qualquer substância adicionada a alimentos deve ser estabelecida visando especificamente às condições de uso, ou usos, desse aditivo nos alimentos. Deve-se considerar: (1) qual o propósito de sua utilização no alimento; (2) o alimento no qual a substância é adicionada; (3) a concentração utilizada nos alimentos; e (4) a população que se espera que ingira a substância.

Exposição: estimativa da ingestão diária Em geral, a exposição é referida como a ingestão diária estimada (IDE ou teórica – IDT) com base em dois fatores: a ingestão (*I*) diária do alimento no qual a substância será adicionada e a concentração (*C*) da substância presente no alimento. Ao se avaliar a exposição, deve-se também considerar outras fontes de consumo para o uso intencional do aditivo, se já é utilizado em alimentos com propósitos diversos, se é encontrado naturalmente em alimentos ou se é utilizado em outros contextos (p. ex., em medicamentos, creme dental ou batons).

Antes de emitir aprovação, as agências regulatórias precisam da comprovação de que o aditivo alimentar é seguro para o uso pretendido e que a IDE ou IDT é inferior a sua ingestão diária aceitável (IDA). A IDA é, em geral, baseada em resultados de estudos toxicológicos animais.

Estabelecimento de nível de alerta e testes requeridos As estruturas químicas de grupos funcionais em aditivos alimentares são classificadas em categorias (A, B e C) com base em seu potencial de nocividade (a categoria A é a menos nociva, e a C é a mais). O nível de alerta (CL; do inglês *concern level*) para cada aditivo é estabelecido a partir de sua estrutura química e do cálculo da exposição (Tab. 30.3). Um aditivo com alto grau de alerta (CLIII) tem maior probabilidade de apresentar risco do que um com baixo grau (CLI). Uma vez estabelecido o CL, define-se uma bateria de testes a serem realizados, como apresentado na Tabela 30.4, para se definir sua segurança.

Determinação da segurança de aditivos indiretos (ou não intencionais) em alimentos Aditivos indiretos, ou não intencionais, não são adicionados diretamente aos alimentos, mas podem estar presentes por processos de migração, a partir de superfícies que estejam em contato com o alimento. Essas superfícies de contato podem ser do material de embalagem (vidro, papel

TABELA 30.3 Estabelecimento do nível de alerta

Estruturas de categoria A	Estruturas de categoria B	Estruturas de categoria C	Nível de alerta
< 0,05 ppm na dieta total (< 0,0012 mg/kg/dia)	< 0,025 ppm na dieta total (< 0,00063 mg/kg/dia)	< 0,0125 ppm na dieta total (< 0,00031 mg/kg/dia)	I
≥ 0,05 ppm na dieta total (≥ 0,0012 mg/kg/dia)	≥ 0,025 ppm na dieta total (≥ 0,00063 mg/kg/dia)	≥ 0,0125 ppm na dieta total (≥ 0,00031 mg/kg/dia)	II
≥1 ppm na dieta total (≥ 0,025 mg/kg/dia)	≥ 0,5 ppm na dieta total (≥ 0,0125 mg/kg/dia)	≥ 0,25 ppm na dieta total (≥ 0063 mg/kg/dia)	III

TABELA 30.4 Resumo dos ensaios toxicológicos recomendados para os diversos níveis de alerta*

Estudos toxicológicos**	Nível de alerta		
	I	II	III
Testes de genotoxicidade de curto prazo	X	X	X
Estudos de metabolismo e toxicocinética		X	X
Estudos de toxicidade subaguda (28 dias) em roedores	X[1]		
Estudos de toxicidade subcrônica (90 dias) em roedores		X[1]	X[1]
Estudos de toxicidade subcrônica (90 dias) em não roedores		X[1]	
Estudos de reprodução e desenvolvimento embrionário (teratogênicos)		X[1]	X[1]
Estudos toxicológicos de um ano em não roedores			X
Estudos de genotoxicidade em roedores			X[2]
Estudos crônicos de toxicidade/carcinogenicidade em roedores			X[2,3]

* http://www.cfsan.fda.gov/~redbook/redtoc93.html
** Não inclui estudos de faixa de dose, se apropriados
[1] Inclui *screens* de efeitos neurotóxicos e imunológicos.
[2] Recomenda-se que em um dos estudos de carcinogênese em roedores, preferencialmente em ratos, seja realizada uma fase de exposição da substância-teste em animais prenhes (exposição *in utero*).
[3] Esses estudos podem ser realizados separadamente.

e plástico) ou utilizadas no processamento, no armazenamento ou no transporte do alimento. O nível de consumo total desses materiais irá determinar os tipos de testes requeridos pela FDA para permitir que certos produtos sejam utilizados em embalagens para determinados alimentos.

Requisitos de segurança para as substâncias GRAS O FD&C Act considera um alimento GRAS quando este é adicionado a outros alimentos, tais como feijões verdes em sopa de legumes. Essa legislação também considera diversos ingredientes de alimentos como GRAS. A Tabela 30.5 apresenta diversos exemplos de substâncias consideradas GRAS. É importante notar que, embora essas substâncias possam ser *utilizadas como* aditivos alimentares, elas *não são*, nesse contexto, consideradas como aditivo na acepção legal da palavra, o que permite que sejam isentas das restrições estabelecidas para os aditivos alimentares previamente a sua comercialização.

Importância do conceito GRAS

Políticas utilizadas no tratamento de plantas transgênicas (e novas variedades de plantas) Durante a última década, cientistas vêm empregando a biotecnologia para inserir um ou mais genes específicos em culturas como as de soja, milho, algodão e canola visando melhorar o manejo de pragas e doenças nessas plantas, levando a benefícios agronômicos, econômicos, ambientais, de saúde e sociais para os produtores. Independentemente do método utilizado na produção da nova variedade de planta, devem ser conduzidos testes que assegurem que os níveis de nutrientes e toxinas nela não foram alterados e que o alimento se mantém seguro para consumo. Nas novas variedades da planta, devem ser realizados testes que, especificamente, demonstrem que qualquer nova proteína produzida por essa planta, a partir de modificação genética, não seja tóxica ou produza alergia.

TABELA 30.5 Exemplos de substâncias GRAS e suas funções

Número do CFR*	Substância	Função
Substâncias geralmente reconhecidas como seguras 21 CFR 182		
182.2122	Silicato de alumínio cálcico	Agente antifermentante
182.8985	Cloreto de zinco	Suplemento nutricional
Substâncias alimentícias diretas geralmente reconhecidas como seguras 21 CFR 184		
184.1005	Ácido acético	Várias
184.1355	Hélio como auxiliar de processamento	
Substâncias alimentícias indiretas geralmente reconhecidas como seguras 21 CFR 186		
186.1025	Ácido caprílico	Agente antimicrobiano
186.1374	Óxidos de ferro	Ingrediente de papel ou cartão

* N. de T.: CFR – do inglês *Code of Federal Regulations*, EUA.

Nanotecnologia A nanotecnologia apresenta vantagens distintas na liberação de sistemas usando micelas e lipossomas e outras vantagens tecnológicas, tais como nanoemulsões (emulsão estável), nanopartículas biopoliméricas (tecnologia de encapsulação) e cubossomas (moléculas hidrofóbicas, hidrofílicas e anfifílicas solúveis, entre outros usos). A nanotecnologia permite que produtos antigos sejam utilizados de novas maneiras e de forma mais eficiente, pois a técnica melhora a solubilidade, facilita a liberação controlada, melhora a biodisponibilidade e protege substâncias pouco estáveis (incluindo micronutrientes e substâncias ativas) durante seu processamento, seu armazenamento e sua distribuição.

Requisitos de segurança relacionados a suplementos dietéticos

Suplementos dietéticos são abordados de forma especial nas leis e regulamentações: são tratados como alimentos ou constituintes de alimentos, e não como aditivos ou medicamentos. O padrão de segurança, nesses casos, usa o conceito de *razoável expectativa de que não produza dano*. Esse conceito pressupõe um padrão de segurança menor do que o de *razoável certeza de que não produza dano* usado para substâncias *adicionadas aos alimentos*, ou seja, os aditivos. Esse conceito se baseia no fato de que os suplementos são utilizados por opção, e não ingeridos de forma involuntária, como no caso dos aditivos alimentares (ou seja, alimentos devem ser presumidamente seguros para ingestão). Assim, existe um padrão de segurança maior para os alimentos. Além disso, fica implícito que o consumidor de suplementos dietéticos assume algum risco, porque (1) existe claramente um ato de escolha envolvido em seu uso, e (2) a dose diária recomendada vem impressa nos rótulos desses suplementos.

Avaliação de substâncias carcinogênicas

Carcinogenicidade: um problema especial associado a alimentos A cláusula Delaney do FD&C Act proíbe que aditivos alimentares tenham seu uso permitido se for sabido que induzem câncer quando ingeridos tanto por seres humanos quanto por animais. Deve-se enfatizar que essa proibição é aplicável apenas nos processos de permissão de uso de aditivos alimentares, corantes e medicamentos veterinários; não se aplica aos contaminantes impossíveis de controle, substâncias GRAS ou ingredientes sancionados pela FDA ou pelo United States Departament of Agriculture (USDA) antes de 1958. De acordo com a cláusula Delaney, um aditivo ou corante alimentar só será considerado cancerígeno se ficar estabelecido que seja um indutor direto de câncer em seres humanos ou animais.

SEGURANÇA ALIMENTAR

Reações adversas a alimentos ou a seus ingredientes

A alergia ou hipersensibilidade a alimentos é uma reação que envolve uma resposta mediada pelo sistema imune. Uma reação alérgica pode se manifestar por um ou mais sintomas, relacionados na Tabela 30.6.

TABELA 30.6 Sintomas de alergias a alimentos mediadas por IgE

Dérmicos	Urticária, eczema, dermatites, pruridos, assaduras
Gastrintestinais	Náusea, vômito, diarreia, cólicas abdominais
Respiratórios	Asma, chiado, rinite, broncospasmo
Outros	Choque anafilático, hipotensão, coceira palatal, edema de língua e laringe, metemoglobinemia*

* Uma manifestação pouco comum de alergia relatada em resposta a intolerância a proteína de leite de soja ou de vaca em crianças.
Fonte: Dados extraídos de Murray KF, Christie, DL: Dietary protein intolerance in infants with transient methemoglobinemia and diarrhea. *J. Pediatr* 122-90, 1993. Elsevier. Fonte: Dados adaptados de Taylor, SL, Scanlan RA (eds): *Food Toxicology: A Perspective on the Relative Risks*. New York, Marcel Dekker, 1989.

Os sintomas mais associados a alergia alimentar são as reações cutâneas e a anafilaxia. Qualquer proteína presente em alimentos pode desencadear uma reação alérgica. A Tabela 30.7 apresenta alguns componentes alergênicos mais frequentemente associados a alergia alimentar.

Reações idiossincráticas causadas por alimentos são, em geral, definidas como respostas *quantitativamente* anormais a aditivos ou substâncias presentes em alimentos. Essas reações podem se assemelhar a hipersensibilidade, porém não envolvem mecanismos imunológicos. A Tabela 30.8 apresenta essas reações e os alimentos provavelmente responsáveis por elas.

Reações anafilactoides são historicamente consideradas como as que mimetizam uma reação anafilática (e outros tipos de

TABELA 30.7 Proteínas alimentares sabidamente alergênicas

Alimento	Proteínas alergênicas
Leite de vaca	Caseína, β- lactoglobulina, α-lactalbumina
Clara de ovos	Ovomucoide, ovalbumina
Gema de ovos	Livetina
Amendoins	Ara h 2, amendoim I
Soja	β-conglicinina (fração 7S), glicinina (fração 11S), Gli mlA, Gli mlb, inibidor Kunitz de tripsina
Bacalhau	Gad cl
Camarão	Antígeno II
Ervilhas	Fração albumínica
Arroz	Fração glutelínica, fração globulínica
Semente de algodão	Fração glicoproteica
Pêssego, goiaba, banana, tangerina, morango	Proteína 30 kDa
Tomate	Diversas glicoproteínas
Trigo	Glúten, gliadina, globulina, albumina
Quiabo	Fração I

Fonte: Dados extraídos de Taylor SL, Scanlan RA (eds.): *Food Toxicology: A Perspective on the Relative Risks*. New York, Marcel Dekker, 1989, p. 265.

respostas do "tipo alérgica") quando da aplicação pela ação direta da histamina. Exemplos dessas reações anafilactoides, também denominadas escombrotoxicose, são as observadas após a ingestão de alguns tipos de peixes expostos a certos microrganismos que os induzem a produzir histamina. (Tab. 30.9). Os broncospasmos induzidos por sulfito foram observados pela primeira vez como um efeito de sensibilidade aguda a metabissulfitos aplicados em vinhos e em saladas servidas em restaurantes.

Existem reações caracterizadas pela resposta exagerada a alguns agentes farmacológicos presentes em alimentos, conhecidas como falsas alergias alimentares, provavelmente causadas por sensibilização a receptores. Em contraste, as reações metabólicas causadas por alimentos diferem das outras categorias de reações adversas, pois os alimentos que as causam são consumidos com certa frequência e só apresentam efeitos tóxicos se ingeridos em excesso ou processados de forma inadequada (Tab. 30.10).

TABELA 30.8 Reações idiossincráticas em alimentos

Alimentos	Reações	Mecanismo de ação
Fava	Hemólise, algumas vezes acompanhada de icterícia e hemoglobinúria; também palidez, fadiga, dispneia, febre e tremores, dores abdominais e dorsais	Agliconas piramidenos em favas levam a oxidação da GSH em eritrócitos deficientes de G-6-PD, porque bloqueiam o suprimento de NADPH, ocasionando estresse oxidativo no eritrócito e eventualmente hemólise.
Chocolate	Cefaleia	Relacionado com a feniletilamina
Beterrabas	Eliminação de urina de cor vermelha (frequentemente confundida com hematúria)	Excreção de betanina na urina após consumo de beterraba
Aspargos	Urina com odor sulfuroso	Incapacidade autossômica dominante para metabolizar o metanotiol presente em aspargos e posterior eliminação desse composto na urina
Vinho tinto	Espirros, rubor, cefaleia, diarreia, coceira, falta de ar	Degradação diminuída da histamina: deficiência da diamina oxidase (?), histaminas presentes no vinho
Alimentos que contêm colina e carnitina	Síndrome do cheiro de peixe: odor desagradável das secreções corpóreas	Colina e carnitina são metabolizadas por bactérias intestinais em trimetilamina, seguida de sua absorção e incapacidade de metabolização para o composto inodoro *N*-óxido de trimetilamina.
Leite	Dores abdominais, inchaço, diarreia	Deficiência de lactase
Alimentos que contêm frutose	Dores abdominais, vômitos, diarreia, hipoglicemia	Atividade reduzida da aldolase B hepática em relação à frutose −1-fosfato

TABELA 30.9 Reações anafilactoides a alimentos

Alimentos	Reações	Mecanismo de ação
Salmão do oeste australiano (*Arripis truttaceus*)	Eritema e urticária, rubor facial e sudorese, palpitações, ondas de calor corpóreas, cefaleia, náusea, vômito e tontura	Intoxicação escombroide; constatação de níveis elevados de histamina no peixe
Peixe (contaminado por histamina)	Rubor facial, cefaleia	Intoxicação histamínica: concentração plasmática de histamina apresenta correlação evidente com a dose ingerida.
Peixe olho-de-boi (*Seriola lalandii*)	*Rash* cutâneo, diarreia, palpitações, cefaleia, náusea e cólicas abdominais, parestesia, sensação de sabor incomum, dificuldades respiratórias	Intoxicação escombroide: tratamento com anti-histamínicos
Sensibilidade a sulfitos	Broncospasmo, asma	Deficiência de sulfito oxidase pelos metabissulfitos presentes em alimentos e no vinho
Atum, albacora, cavala, bonito, *mahimahi* e anchova	Reações que mimetizam reações alérgicas agudas	Intoxicação escombroide: tratamento com anti-histamínicos e cimetidina
Queijo	Sintomas que mimetizam reações alérgicas agudas	Responde a anti-histamínicos: intoxicação por histamina

TABELA 30.10 Reações metabólicas alimentares

Alimento	Reação	Mecanismo
Feijão, mandioca, broto de sorgo, amêndoas amargas, damasco e caroço de pêssego	Cianose	Glicosídeos cianogênicos liberam cianeto ao entrar em contato com o ácido estomacal
Família dos repolhos, nabos, soja, rabanetes, colza e mostarda	Bócio (aumento da tireoide)	Isotiocianatos, goitrina ou(S)-5-vinil oxazolidina--2-tiona interferem na utilização do iodo pela tireoide
Frutas imaturas da árvore tropical *Blighia sapida*, comum no Caribe e na Nigéria	Vômito, coma e hipoglicemia aguda, que pode resultar em morte, especialmente entre os desnutridos	A hipoglicina A isolada da fruta pode interferir na oxidação de ácidos graxos, de forma que as reservas de glicogênio tenham de ser metabolizadas para se obter energia, com depleção de carboidratos, acarretando hipoglicemia
Leguminosas, crucíferas	Sintomas de latirismo: sintomas neurológicos de fraqueza, paralisia de membros inferiores e, algumas vezes, morte	Inibição do ácido L-2, 4 – diaminobutírico da transcarbamilase do ciclo da ureia, induzindo toxicidade por amônia
Alcaçuz (ácido glicirrízico)	Hipertensão, hipertrofia cardíaca, retenção de sódio	O ácido glicirrízico mimetiza as ações dos mineralocorticoides.
Fígado de urso polar e de galinha	Irritabilidade, vômito, aumento da pressão intracraniana, morte	Toxicidade causada por excesso de vitamina A
Cicadáceas (farinha produzida com as cícadas)	Esclerose amiotrófica lateral (humanos), hepatocarcinogenicidade (ratos e primatas não humanos)	Cicasina (metilazoximetanol); a ação primária é a metilação, resultando em diversos efeitos, desde destruição a inativação de sistemas enzimáticos.

ESTABELECIMENTO DE LIMITES DE TOLERÂNCIA PARA SUBSTÂNCIAS QUÍMICAS EM ALIMENTOS

Resíduos de praguicidas

Os praguicidas utilizados no cultivo de alimentos devem ser aprovados pelo FD&C Act. No estabelecimento da IDA, deve-se adotar um fator de segurança adicional de 10 para crianças, considerando-se a toxicidade potencial pré e pós-natal.

Medicamentos utilizados na produção animal

Ao se avaliar o potencial risco humano associado ao uso de medicamentos na produção animal, devem ser considerados as características farmacocinéticas e os processos de biotransformação do fármaco tanto no animal como no ser humano. A avaliação do risco, que determina a segurança de um composto, preocupa-se particularmente com resíduos que podem estar presentes em alimentos de origem animal (leite, queijo, entre outros) e em tecidos comestíveis (músculos, fígado, entre outros).

Contaminantes inevitáveis

Alguns contaminantes encontrados em alimentos são inevitáveis, em função de seu uso amplamente disseminado, de sua presença na crosta terrestre, o que o leva a ser considerado um contaminante persistente e ubíquo no ambiente, ou da presença de produtos resultantes do processamento normal do alimento. Os exemplos mais comuns são os metais pesados, que acarretam uma variedade de sintomas, desde os neurológicos a câncer, compostos *N*-nitrosos, cancerígenos, que são encontrados em carnes curadas com nitrato e em algumas bebidas, e as micotoxinas (produzidas por fungos), tais como as aflatoxinas, que são hepatotóxicas e carcinogênicas, e a zearalenona, uma micotoxina hiperestrogênica (Tab. 30.11).

SUBSTÂNCIAS PARA AS QUAIS NÃO SÃO ESTABELECIDOS LIMITES DE TOLERÂNCIA

As substâncias apresentadas neste item são consideradas (1) *evitáveis* ou com tal toxicidade que um limite de segurança não pode ser estabelecido, e, dessa forma, a FDA determina que os alimentos que as contenham sejam banidos, ou (2) fora do controle da FDA e não podem ser reguladas (p. ex., substâncias produzidas nas moradias dos consumidores).

Toxinas produzidas por peixes, mariscos e tartarugas

De acordo com a FDA, as toxinas originárias de frutos do mar são tratadas com tolerância zero, sendo que qualquer nível detectável pode exigir uma ação regulamentadora por parte da agência. As brevetoxinas, produzidas por dinoflagelados (*Gymnodinium breve*) e concentradas em organismos filtradores, ligam-se aos canais de sódio. Após o consumo humano desse tipo de toxina, os sintomas observados incluem náusea, dormência e formigamento da área oral, perda do controle motor e forte dor

TABELA 30.11 Seleção de micotoxinas produzidas por vários fungos: alguns de seus efeitos e os alimentos em que são encontradas

Micotoxina	Fontes	Efeitos	Alimentos contaminados
Aflatoxinas B_1, B_2, G_1, G_2	*Aspergillus flavus, parasiticus*	Aflatoxicose aguda, câncer	Milho, amendoim, entre outros
Aflatoxina M_1	Metabólito da AFB_1	Hepatotoxidade	Leite
Fumonisinas B_1, B_2, B_3, B_4, A_1, A_2	*Fusarium verticillioides*	Carcinogênese renal e hepática	Milho
Tricotecenos (p. ex., T-2, desoxinivalenol, diacetoxiscirpenol	*Fusarium* e *Myrothecium*	Toxicidade hematopoiética, hemorragia cerebral das meninges, distúrbios nervosos, necrose de pele, hemorragia da mucosa epitelial do estômago e intestino, êmese, inapetência, imunossupressão	Cereais, milho
Zearalenonas	*Fusarium*	Efeito estrogênico	Milho, grãos
Ácido ciclopiazônico	*Aspergillus, Penicillium*	Efeitos tóxicos em músculo, fígado e baço	Queijo, grãos e amendoim
Ácido kójico	*Aspergillus*	Hepatotoxicidade	Grãos, ração animal
Ácido 3-nitropropiônico	*Arthrinium sacchari, A. saccharicola, A. phaeospermum*	Comprometimento do sistema nervoso central	Cana-de-açúcar
Citreoviridina	*Penicillium citreoviride, P. toxicarium*	Beribéri cardíaco	Arroz
Citochalasinas E, B, F, H	*Aspergillus* e *Penicillium*	Citotoxicidade	Milho, grãos
Esterigmatocistina	*Aspergillus versiolar*	Câncer	Milho
Ácido penicinílico	*Penicillium cyclopium*	Nefrotóxico, abortivo	Milho, feijões secos, grãos
Rubratoxinas A, B	*Penicillium rubrum*	Hepatotoxicidade, teratogenicidade	Milho
Patulina	*Penicillium patulatum*	Câncer, dano hepático	Maçã e derivados de maçã
Ocratoxina	*Aspergillus ochraceus, A. carbonarius, Penicillium verrucosum*	Nefropatias endêmicas, Câncer	Grãos, amendoim, uvas, café verde
Citrinina	*Aspergillus* e *Penicillium*	Nefrotoxicidade	Grãos
Penitrem(s)	*Aspergillus, Claviceps e Penicillium*	Tremores, incoordenação, diarreia sanguinolenta, morte	Queijo embolorado, amêndoas inglesas, pão de hambúrguer, cerveja
Alcaloides do Ergot	*Claviceps purpurea*	Ergotismo	Grãos

muscular. Todos esses sintomas se dissipam em poucos dias. A saxitoxina é encontrada em mariscos que se alimentam de dinoflagelados; ela bloqueia os canais de sódio na transmissão nervosa, na junção neuromuscular, levando a parestesia e fraqueza muscular. O ácido domoico também pode ser encontrado em mariscos, e, por ser um análogo do neurotransmissor glutamina, acarreta dano no hipocampo e em outras áreas cerebrais, causando sintomas neurológicos. A ciguatera é oriunda de dinoflagelados e transformada por peixes em sua forma ativa; indivíduos, após consumirem esses peixes com ciguatoxina, apresentam distúrbios gastrintestinais, sintomas neurológicos ou morte. A tetrodotoxina pode ser consumida por seres humanos na ingestão de peixe baiacu mal preparado. Essa toxina causa paralisia do sistema nervoso central e periférico pelo bloqueio da passagem dos cátions monovalentes nos canais, levando a paralisia muscular, problemas respiratórios e, algumas vezes, morte. As tartarugas marinhas apresentam uma toxina (quelonitoxina) que causa necrose do miocárdio e edema pulmonar.

Agentes microbianos

A maior parte das intoxicações relacionadas a alimentos, nos EUA, deve-se a contaminação microbiana. O botulismo é causado por uma toxina produzida pelo *C. botulinum* e pelo *C. butyricum* em alimentos enlatados inadequadamente. Essa toxina interfere com a acetilcolina nas terminações nervosas, pro-

vocando o aparecimento de problemas respiratórios e paralisia pulmonar. A intoxicação causada por *C. perfringens* deve-se ao consumo de carne contaminada com conteúdo intestinal no momento do abate, cozida e armazenada de maneira inadequada, o que permite o crescimento do microrganismo e de sua respectiva micotoxina. Esta causa a morte dos enterócitos e grande perda de fluido, em função da diarreia que produz. O *Bacillus cereus* produz duas toxinas: uma causa vômitos e é produzida em arroz preparado inadequadamente, enquanto a outra também causa vômitos e pode estar presente em diferentes tipos de alimentos. O *Staphylococcus aureus*, presente em condições normais na flora dérmica e nasal humana, produz uma grande variedade de endo e exotoxinas. Os alimentos podem ser contaminados a partir do manuseio humano, durante sua manipulação, e mantidos à temperatura ambiente por várias horas. Os bovinos são reservatórios naturais de *Escherichia coli*; assim, os surtos de *E. coli* são associados com o preparo inadequado de carne bovina, bem como de sucos não pasteurizados e vegetais crus obtidos de plantas fertilizadas com esterco.

Encefalopatia espongiforme bovina

A encefalopatia espongiforme bovina (doença da vaca louca) é transmitida por uma proteína infectante denominada príon, presente em gado infectado. Esses príons são transmitidos pela ingestão humana de carne inadequadamente tratada. A moléstia manifesta-se clinicamente como um dano neurológico que pode levar à morte.

CONCLUSÃO

Os alimentos são formados por uma miríade de substâncias químicas, além dos macro e micronutrientes essenciais à vida. A grande maioria das doenças ocasionadas por alimentos é atribuída à contaminação microbiológica. Assim, a grande preocupação em relação à segurança alimentar deve estar associada a evitar a contaminação microbiológica e preservar a integridade dos alimentos.

REFERÊNCIAS

Barceloux DG: *Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2008.

Kotsonis F, Mackey M (eds): *Nutritional Toxicology*. New York: Taylor & Francis, 2002.

Omaye ST: *Food and Nutritional Toxicology*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2004.

Pussa T: *Principles of Food Toxicology*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2008.

QUESTÕES

1. Qual destas afirmações sobre a complexidade dos alimentos é FALSA?
   a. Diversos aditivos flavorizantes são substâncias sem valor nutricional.
   b. Alimentos são sujeitos a fatores ambientais que alteram sua composição química.
   c. Existem mais substâncias sem valor nutricional do que com valor nutricional.
   d. A maioria das substâncias sem valor nutricional é adicionada aos alimentos a seres humanos.
   e. Alimentos são mais variáveis e complexos do que a maioria dos compostos passíveis de exposição a seres humanos.

2. Qual dos seguintes alimentos contém maior número de substâncias sem valor nutricional?
   a. Carne
   b. Banana
   c. Tomate
   d. Suco de laranja
   e. Queijo *cheddar*

3. Qual das seguintes substâncias é considerada um aditivo alimentar indireto?
   a. Nitritos
   b. Plástico
   c. Corantes
   d. EDTA
   e. Ácido cítrico

4. A ingestão diária estimada (IDE) é baseada:
   a. Na taxa metabólica.
   b. Na ingestão diária.
   c. Na concentração da substância no alimento.
   d. No índice de massa corpórea.
   e. Na concentração da substância no alimento e na ingestão diária.

5. Qual dos seguintes sintomas NÃO é característico das alergias alimentares mediadas por IgE?
   a. Urticária
   b. Chiado
   c. Hipertensão
   d. Náusea
   e. Choque

6. Qual das seguintes proteínas do trigo é famosa por ser alergênica?
   a. Caseína
   b. Ovalbumina
   c. Livetina
   d. Glúten
   e. Glicina

7. Qual dos seguintes alimentos contém uma substância que causa hipertensão, ao agir como um estimulante noradrenérgico?
   a. Queijo
   b. Amendoim
   c. Camarão
   d. Chocolate
   e. Beterraba

8. Qual é o mecanismo da saxitoxina, encontrada em mariscos?
   a. Interferência nos canais iônicos
   b. Neurotoxicidade direta
   c. Interferência na replicação do DNA
   d. Ligação com a hemoglobina
   e. Interferência com a proteína estimulatória G

9. Qual destes alimentos pode causar uma reação semelhante à deficiência de iodo?
   a. Chocolate
   b. Marisco
   c. Amendoim
   d. Fava
   e. Repolho

10. Alimentos enlatados inapropriadamente podem estar contaminados com qual das seguintes bactérias, causando paralisia respiratória?
   a. *C. perfringens*
   b. *R. ricketsii*
   c. *S. aureus*
   d. *C. botulinum*
   e. *E. coli*

CAPÍTULO

31

Toxicologia Analítica e Forense

Alphonse Poklis

TOXICOLOGIA ANALÍTICA

ASPECTOS ANALÍTICOS DA TOXICOLOGIA FORENSE

INVESTIGAÇÃO DE MORTES CAUSADAS POR INTOXICAÇÕES

INTOXICAÇÕES CRIMINOSAS NÃO FATAIS

ANÁLISE DE DROGAS DE ABUSO EM URINA COM FINALIDADE FORENSE

TESTE DE DESEMPENHO HUMANO

TESTEMUNHO EM TRIBUNAIS

ANÁLISES TOXICOLÓGICAS NA TOXICOLOGIA CLÍNICA

ANÁLISES TOXICOLÓGICAS E CONTROLE TERAPÊUTICO

ANÁLISES TOXICOLÓGICAS E MONITORAMENTO BIOLÓGICO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL

CONCLUSÃO

PONTOS-CHAVE

- A toxicologia analítica aplica os fundamentos da química analítica para determinações qualitativas e quantitativas de substâncias químicas que possam causar efeitos adversos a organismos vivos.
- A toxicologia forense é a aplicação da toxicologia com finalidade legal; a aplicação mais comum é a identificação de substâncias químicas que possam ser usadas como agentes causais de morte ou dano à saúde de humanos ou causar dano a propriedades.
- A investigação toxicológica da morte causada por intoxicação envolve pelo menos três etapas: (1) obtenção da história do caso com a maior quantidade de informações possíveis; (2) realização das análises toxicológicas nas amostras coletadas; (3) interpretação dos achados analíticos obtidos.
- O toxicologista forense, como testemunha especialista, objetiva elucidar aspectos técnicos dos métodos analíticos e de interpretação dos resultados analíticos, fornecendo à corte sua "opinião" sobre os dados obtidos.

TOXICOLOGIA ANALÍTICA

A toxicologia analítica emprega os fundamentos da química analítica para determinar de forma qualitativa e/ou quantitativa substâncias químicas que possam estar envolvidas em intoxicações. A toxicologia forense envolve a aplicação da toxicologia com finalidade legal; sua maior aplicação é na identificação de qualquer substância química que possa causar morte ou dano à saúde do ser humano ou que possa causar dano ao patrimônio. O uso de análises sistemáticas aliadas ao emprego de técnicas analíticas modernas e à vivência prática do toxicologista forense fornece informações necessárias para o melhor entendimento sobre o papel das substâncias químicas na intoxicação.

Em sua obra *Elements de Toxicologie* (1873), Chapuis classificou os toxicantes em categorias, de acordo com sua origem ou natureza: gases, substâncias voláteis, agentes corrosivos, metais, ânions e não metais, substâncias orgânicas não voláteis e outros. Os métodos de análise de agentes tóxicos presentes em matrizes biológicas podem ser agrupados em categorias muito semelhantes. O toxicante pode estar presente na forma livre na matriz ou estar ligado a proteínas e a outros constituintes celulares. Assim, antes que a análise possa ser realizada, é necessário que a substância seja isolada da matriz.

ASPECTOS ANALÍTICOS DA TOXICOLOGIA FORENSE

O toxicologista forense realiza análises qualitativas e quantitativas, pesquisando toxicantes que possam estar presentes em fluidos biológicos coletados *post-mortem*, durante a necropsia. O toxicologista forense deve, ainda, interpretar os achados analíticos obtidos considerando os efeitos fisiológicos e comportamentais que as substâncias detectadas causaram no indivíduo momentos antes de sua morte.

A determinação da causa da morte é atribuição do médico legista, mas frequentemente essa conclusão só pode ser obtida com resultados emitidos pelo patologista e pelo toxicologista forense. Quando se suspeita que a morte foi causada por intoxicação, é imprescindível a realização de análise toxicológica que determine a presença do toxicante em tecidos ou fluidos biológicos coletados do indivíduo cuja morte esteja sendo investigada. Sem a comprovação laboratorial, o médico legista não pode afirmar que a morte foi causada por um agente tóxico, ou poderá ter seu laudo contestado durante o processo judicial. Além disso, o toxicologista forense pode contribuir decisivamente na investigação criminal fornecendo informações relevantes sobre as circunstâncias que envolveram o óbito. Como exemplo, pode-se citar a determinação da concentração de etanol presente no sangue de vítimas de acidentes de trânsito ou de trabalho, ou a determinação da concentração de monóxido de carbono em vítimas encontradas em locais de incêndio para determinar se a morte ocorreu em função do fogo ou se a vítima já estava morta quando o incêndio começou.

INVESTIGAÇÕES DE MORTES CAUSADAS POR INTOXICAÇÕES

A investigação de mortes causadas por intoxicações pode ser dividida em três etapas: (1) obtenção da história do caso com a maior quantidade de informações possíveis; essas informações podem contribuir para a escolha das amostras biológicas a serem coletadas; (2) realização das análises toxicológicas nas amostras coletadas; (3) interpretação dos achados analíticos obtidos. Para realização das análises toxicológicas, é fundamental que o toxicologista conheça a toxicocinética, em especial os fenômenos de biotransformação do toxicante, pois muitas vezes os produtos de biotransformação serão a única evidência de que o toxicante fora administrado ao indivíduo. A interpretação dos resultados obtidos é imprescindível, e deve responder (sempre que possível) a questões como a dose e a via de administração utilizada, bem como se a concentração do toxicante presente foi suficiente para causar a morte ou alterar a consciência do indivíduo de modo a contribuir decisivamente para desencadear um acidente ou uma ação criminosa.

INTOXICAÇÕES CRIMINOSAS NÃO FATAIS

Nos dias atuais, é cada vez mais frequente a solicitação de análises toxicológicas com finalidade forense em amostras biológicas coletadas de vítimas que não foram a óbito. Dois exemplos desse tipo de intoxicação criminosa são: (1) a administração de substância química com a finalidade de incapacitar a vítima, deixando-a suscetível a roubo, sequestro ou violência sexual e (2) a intoxicação como meio para abuso ou agressão infantil.

TABELA 31.1 Distribuição das drogas de abuso identificadas em amostras de urina de 578 casos nos quais foi alegada agressão sexual

Classificação	Droga/Grupo	Incidência	Porcentagem de casos*
1	Não detectado	167	29
2	Etanol	148	26
3	Benzodiazepínicos	70	12
4	Maconha	67	12
5	Anfetamínicos	41	7
6	Gama-hidroxibutirato	24	4
7	Opiáceos (morfina/codeína)	20	4
8	Outras drogas	13	3

Fonte: Dados de ElSohly MA, et al: *Analysis of flunitrazepam metabolites and other substances in alleged cases of sexual assault. Apresentada no Encontro do 50°. Aniversário da American Academy of Forensic Sciences*, San Francisco, CA, 13 de Fevereiro de 1997.
* A porcentagem não completa 100% devido aos arredondamentos.

Algumas drogas de abuso e substâncias psicoativas frequentemente utilizadas como facilitadoras de crimes sexuais estão presentes na Tabela 31.1. Muitos agentes indutores de anestesia geral são de particular interesse. Uma porção desses fármacos, como os benzodiazepínicos e fenotiazínicos, estão disponíveis atualmente por fontes legais e ilegais. Quando administrados sem que a vítima perceba, essas substâncias causam sedação e podem incapacitá-la, além de produzir amnésia, sem causar depressão grave do sistema nervoso central. Esses casos são um desafio analítico ao toxicologista forense, uma vez que, em geral, o fármaco administrado já foi eliminado do organismo quando a vítima procura socorro médico ou da polícia.

Nos casos de agressão e abuso infantil, os agentes comumente utilizados são xarope de ipeca, laxantes, diuréticos, antidepressivos, hipnóticos-sedativos e narcóticos. O agente tóxico pode ser administrado para a criança parar de chorar ou por outras crianças mais velhas como forma de agressão. Para análise desses agentes pode ser necessária a utilização de métodos sofisticados, geralmente baseados em cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas.

ANÁLISE DE DROGAS DE ABUSO EM URINA COM FINALIDADE FORENSE

As graves consequências para a sociedade e para o indivíduo relacionadas com o abuso de substâncias psicoativas evidenciam a importância das análises realizadas em urina para detecção de agentes tóxicos lícitos e ilícitos. Esse tipo de análise toxicológica forense diverge das demais, pois a urina é o único fluido biológico disponível, e o número de toxicantes pesquisados é limitado. A análise preliminar (triagem) é realizada por imunoensaios utilizando-se equipamentos rápidos, que permitem a análise de grande quan-

tidade de amostras diariamente. A análise confirmatória é realizada em laboratórios certificados para realização desse tipo de teste.

Na tentativa de burlar as análises toxicológicas em urina, artifícios fisiológicos como a ingestão de diuréticos ou mesmo a adulteração da amostra com alvejante, vinagre ou outros produtos que possam interferir no teste preliminar (imunoenzimático) podem ser utilizados pelo indivíduo submetido ao teste de urina. Por essa razão, antes da análise toxicológica, a qualidade da amostra deve ser investigada por meio de parâmetros como cor, pH urinário, concentração de creatinina, densidade, cor e odor. Ultimamente, vários produtos têm surgido no mercado para "enganar os testes de urina". Assim, os laboratórios de análises toxicológicas devem pesquisar não apenas drogas de abuso, mas também substâncias químicas que possam ter sido adicionadas à amostra para adulterá-la. Em alguns casos, a comprovação da adulteração intencional da amostra tem consequências tão graves quanto a identificação da droga na urina.

TESTE DE DESEMPENHO HUMANO

As atividades da toxicologia forense também incluem a determinação da presença de etanol e outras drogas de abuso e toxicantes no sangue, no ar exalado ou em outros fluidos biológicos e a avaliação de seu papel na modificação do desempenho e do comportamento humano. A aplicação mais comum de testes de desempenho humano é a de determinar a condução de veículos sob a influência de álcool ou drogas. O limiar de concentração de álcool no sangue capaz de diminuir o desempenho da complexa função de condução de veículos em muitos indivíduos é tão baixo quanto 0,04 g/dL, o equivalente à ingestão de duas cervejas na hora que precedeu o ato de dirigir. A definição legal de condução de veículos sob a influência de álcool nos Estados Unidos é uma concentração de álcool no sangue entre 0,08 e 0,10 g/dL, dependendo da lei estadual específica. Essas concentrações são, na vasta maioria dos indivíduos, consistentes com a diminuição no desempenho de atividades complexas, como é o caso da condução de veículos.

Durante a última década, aumentou a preocupação com o efeito deletério de drogas, além do etanol, na condução de veículos. Os toxicantes mais associados a acidentes de trânsito incluem drogas ilícitas e fármacos controlados, como cocaína, benzodiazepínicos, maconha e fenciclidina.* A comprovação de que o uso de drogas foi determinante na causa de um acidente de trânsito é difícil, e existem problemas jurídicos e científicos sobre as concentrações de drogas e o comprometimento da habilidade de dirigir que precisam ser resolvidos.

TESTEMUNHO EM TRIBUNAIS

O toxicologista forense é frequentemente convocado a testemunhar em processos judiciais na condição de "testemunha técnica". Uma testemunha técnica pode fornecer dois tipos de testemunho: o objetivo ou a emissão de uma "opinião". O testemunho objetivo fornecido pelo toxicologista envolve, em geral, a descrição de seu método analítico e achados. Quando o toxicologista testemunha sobre a interpretação de resultados analíticos, ele está fornecendo sua "opinião". Uma testemunha técnica é chamada para fornecer assistência ao júri. O júri, e não a testemunha técnica, determina a culpa ou a inocência do acusado.

ANÁLISES TOXICOLÓGICAS NA TOXICOLOGIA CLÍNICA

Em um ambiente clínico, as análises toxicológicas auxiliam no diagnóstico e no tratamento das intoxicações, bem como na avaliação da eficácia do tratamento empregado. Informações sobre a quantidade de toxicante absorvida (ou disponível para distribuição), somadas à avaliação clínica realizada pelo médico, permitem correlacionar sinais e sintomas e direcionar o paciente para o tratamento mais adequado para a intoxicação.

A regra fundamental no tratamento da intoxicação é remover o material que ainda não foi absorvido, limitando a absorção e facilitando sua eliminação. O laboratório de análises toxicológicas auxilia no monitoramento da concentração do agente tóxico ainda disponível para distribuição (presente na circulação sanguínea) ou que já foi excretado. Os agentes tóxicos mais relevantes na toxicologia clínica (ou toxicologia de emergência) e as metodologias de análise utilizadas para detectá-los em amostras de urina e/ou soro são apresentados na Tabela 31.2.

São exemplos de análises toxicológicas de emergência a determinação da concentração sérica de paracetamol, salicilatos, álcoois e glicol de pacientes suspeitos de intoxicações agudas por esses agentes. O etanol é o toxicante identificado com maior frequência nas análises toxicológicas de emergência; sua concentração no sangue é importante, por exemplo, para avaliar o comportamento e a função neurológica do paciente. Outros álcoois e glicóis envolvidos em intoxicações acidentais ou intencionais são metanol, isopropanol e etilenoglicol, substâncias amplamente utilizadas em indústrias e laboratórios farmacêuticos ou presentes em produtos como removedores de tinta e anticongelantes.

A importância dada aos laboratórios de análises toxicológicas de emergência tem aumentado significativamente nos últimos anos. Em geral, esses laboratórios realizam exames não apenas para o setor de pronto atendimento, mas também para diversos departamentos do hospital, uma vez que agentes tóxicos devem ser considerados durante o diagnóstico de muitos problemas médicos.

ANÁLISES TOXICOLÓGICAS E CONTROLE TERAPÊUTICO

Historicamente, o uso prolongado de fármacos teve como base a resposta observada. Se o tratamento parecia perder efeito, a dose do fármaco era aumentada; se fossem observados sinais de manifestações de efeitos tóxicos, a dose era diminuída ou a frequência de administração era alterada. Vários fatores estão relacionados com a variabilidade da resposta individual à administração de um fármaco, e incluem taxa e extensão da absorção, distribuição e afinidade por tecidos e fluidos, biotransformação, eliminação, estado de saúde e interação com outras substâncias. O monitoramento da concentração sérica ou plasmática em intervalos de tempo regulares irá detectar desvios com relação à concentração média obtida em estudos clínicos abrangentes, indicando a necessidade de correção da dose administrada.

* N. de T.: O abuso de fenciclidina, se comparado a outras drogas de abuso, não é relevante no Brasil.

TABELA 31.2 Principais métodos de análise e toxicantes relacionados com a toxicologia de emergência

Toxicante/grupo de toxicante	Fluido biológico	Método analítico
Drogas de abuso (anfetaminas, cocaína, opiáceos, fenciclidina)	Urina	Imunoensaios
Etanol	Soro	CG
Benzodiazepínicos	Urina, soro	Imunoensaios, CG-EM
Paracetamol, salicilatos	Soro	Imunoensaios, CLAE
Antidepressivos tricíclicos	Soro	Imunoensaios, CLAE
Ibuprofeno	Urina, soro	CCD, CLAE
Dextropropoxifeno	Urina	Imunoensaios
Fluoxetina	Urina, soro	CCD, CLAE
Barbitúricos (50% fenobarbital)	Urina, soro	Imunoensaios, CG
Difenidramina	Urina	CCD

Nota: CG = cromatografia gasosa; CG-EM = cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas; CLAE = cromatografia líquida de alta eficiência; CCD = cromatografia em camada delgada.
Fonte: Dados de Year-End 1998 Emergency Department Data from the Drug Abuse Warning Network, Department of Health and Human Services, December 1999.

Em um dado paciente, a administração da mesma dose de um fármaco em intervalos regulares produz, no fim, um estado de equilíbrio na concentração sérica (Fig. 31.1). O monitoramento desse estado de equilíbrio assegura a concentração sanguínea efetiva do fármaco. Algumas situações nas quais o controle terapêutico é indicado são apresentadas na Tabela 31.3.

Como existe uma grande variedade de fármacos para os quais se recomenda o controle terapêutico, diversas técnicas

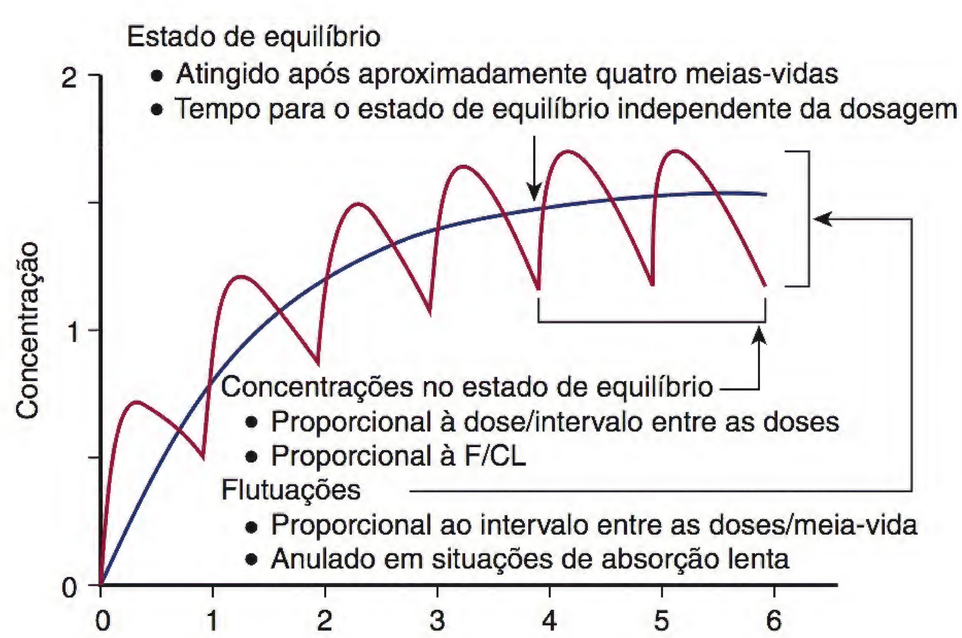


FIGURA 31.1 Relações farmacocinéticas fundamentais para a administração repetida de fármacos. A linha vermelha é o padrão de acúmulo do fármaco durante administrações repetidas em intervalos iguais a sua meia-vida de eliminação. Conforme a taxa de absorção relativa aumenta, a concentração máxima aproxima-se de 2 e retorna ao mínimo 1 no estado de equilíbrio. A linha azul descreve o comportamento durante a administração de doses equivalentes por infusão intravenosa contínua. As curvas são baseadas em modelos monocompartimentais. A concentração média (Css) atingida no estado de equilíbrio durante a administração intermitente do fármaco é calculada por *Css = F x dose/Cl x T*, em que F é a fração biodisponível da dose e T o intervalo de administração (tempo). Substituindo a taxa de infusão por *F x dose/T*, a equação fornece a concentração mantida no estado de equilíbrio durante a administração intravenosa contínua. (Reproduzida com permissão de Brunton LL, Lazzo JS, Parker KL: *Goodman & Gilman´s the pharmacological basis of therapeutics*, 11th edition. New York: McGraw-Hill, 2006.)

TABELA 31.3 Situações para as quais é indicado o monitoramento terapêutico

Indicação	Exemplos
Otimizar a eficácia do tratamento minimizando a toxicidade	
Determinação da concentração sérica efetiva	
Rotina, pico sérico profilático	Aminoglicosídeos
Baixa resposta do paciente ao tratamento ministrado	Antiarrítmicos, antidepressivos
Suspeita de aparecimento de efeitos tóxicos	
Esclarecer fatores complicadores	
Características especiais do paciente ou da doença	Idade, tabagismo, complicações renais ou hepáticas
Interações farmacológicas	Indução ou inibição do metabolismo
Alterações súbitas do estado fisiológico	Melhora da função cardíaca na terapia com lidocaína aumenta o *clearance*
Ajustar a dose administrada	
Individualização de doses que serão administradas (a partir de única dosagem sérica)	
Perfil farmacocinético (múltiplas dosagens séricas)	Determinação da dose ideal para aminoglicosídeos
Verificação de uso terapêutico	Avaliação médico-legal (forense) da concentração de lítio no soro

TABELA 31.4 Fármacos indicados para monitoramento terapêutico

Fármaco/classe farmacológica	Faixa terapêutica, mg/L	Concentração tóxica, mg/L	Método analítico
Antiarrítmicos			
Digoxina	0,0005-0,002	0,0024	Imunoensaios
Procainamida	4-10	12	Imunoensaios
NAPA	5-30	40	Imunoensaios
Anticonvulsivantes			
Carbamazepina	4-12	15	Imunoensaios
Gabapentina	2-15	20	CG
Lamotrigina	0,5-8	10	CLAE
Fenobarbital	15-30	50	Imunoensaios
Fenitoína	10-20	40	Imunoensaios
Topiramato	2-10	Indeterminado	CG
Ácido valproico	50-100	200	CG
Antidepressivos			
Amitriptilina	0,08-0,250	0,5	CLAE
Desipramina	0,125-0,30	0,4	CLAE
Nortriptilina	0,08-0,250	0,5	CLAE
Antibióticos			
Tobramicina	0,5-1,5 (vale)	2	Imunoensaios
Vancomicina	5-10 (pico)	12	Imunoensaios
	5-10 (vale)	90	Imunoensaios
	30-40 (pico)		Imunoensaios
Imunosupressores			
Ciclosporina	0,1 (vale, sangue total)		CLAE
Apneia neonatal			
Cafeína	8-20	50	CLAE

Nota: CG = cromatografia gasosa; CLAE = cromatografia líquida de alta eficiência.

analíticas podem ser utilizadas para essa finalidade. A Tabela 31.4 apresenta alguns fármacos para os quais o controle terapêutico é indicado, suas doses efetivas e tóxicas* e a técnica analítica que costuma ser utilizada para determinação de sua concentração sérica.

ANÁLISES TOXICOLÓGICAS E MONITORAMENTO BIOLÓGICO DA EXPOSIÇÃO OCUPACIONAL

O monitoramento biológico de trabalhadores é melhor indicador da exposição ocupacional a agentes tóxicos do que o simples monitoramento do ambiente de trabalho, uma vez que o monitoramento biológico demonstrará o que efetivamente foi absorvido pelo trabalhador. Com frequência, o trabalhador é exposto, no ambiente de trabalho e no seu dia a dia, a misturas de substâncias químicas que serão biotransformadas a metabólitos fisiologicamente importantes. Assim, as técnicas analíticas utilizadas para o monitoramento biológico devem ter boa seletividade. Devem, ainda, apresentar sensibilidade adequada para quantificar o agente tóxico e/ou seu produto de biotransformação presente em matrizes biológicas complexas.

Além de analisar o agente tóxico ou seu produto de biotransformação em fluidos biológicos, cabelo ou ar exalado do trabalhador, outros métodos mais indiretos podem ser utilizados. Agentes que interagem com macromoléculas podem formar aductos que persistem por longos períodos. Esses aductos podem fornecer informações importantes sobre a exposição prolongada ao agente tóxico. Como exemplo, aductos de óxido de etileno com DNA e hemoglobina podem ser identificados em trabalhadores. Outra abordagem útil no monitoramento biológico é medir alterações no metabolismo normal do indivíduo induzidas pela exposição a xenobióticos. Ainda que o monitoramento dessas alterações do metabolismo (geralmente se utiliza a pesquisa de metabólitos urinários) não seja específico para uma única substância, esse procedimento pode ser útil para avaliação geral do trabalhador, sinalizando quando houver qualquer exposição potencialmente perigosa. A identificação precoce da exposição pode permitir a proteção do trabalhador antes que se manifestem efeitos tóxicos graves e, por vezes, irreversíveis.

* N. de T.: Nos Estados Unidos, a concentração tóxica é chamada de *panic value*. Como essa concentração se refere à concentração sérica do fármaco associada a perigo iminente, em laboratórios clínicos americanos, quando esse valor é detectado, o toxicologista imediatamente notifica o clínico responsável a respeito do resultado.

CONCLUSÃO

Mesmo com os avanços das técnicas analíticas, que evoluíram em complexidade e confiabilidade, a experiência dos toxicologistas forenses continua sendo elemento essencial na identificação inequívoca de agentes tóxicos para embasar processos legais. Drogas de origem sintética, fármacos mais potentes, preocupações com a poluição ambiental, a segurança e a saúde dos trabalhadores continuarão apresentando desafios às habilidades do toxicologista analítico.

REFERÊNCIAS

Flanagan RJ, Taylor AA, Watson ID, Whelpton R: *Fundamentals of Analytical Toxicology*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2007.

Jickells S, Negrusz (eds): *Clarke's Analytical Forensic Toxicology*. Chicago: Pharmaceutical Press, 2008.

Kulpmann WR (ed): *Clinical Toxicological Analysis: Procedures, Results, Interpretation*. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2009.

QUESTÕES

1. Qual grupo de toxicantes a seguir é o mais utilizado como agente facilitador para roubos e crimes sexuais?
   a. Narcóticos
   b. Anfetamínicos
   c. Benzodiazepínicos
   d. Etanol
   e. Antidepressivos

2. Todas as afirmações a seguir, a respeito da toxicologia analítica/forense estão corretas, EXCETO:
   a. A toxicologia analítica utiliza a química analítica para caracterizar os efeitos adversos causados por substâncias químicas em um organismo.
   b. O médico legista é o profissional mais importante na determinação da causa de uma morte.
   c. Tecidos e fluidos biológicos são essenciais para análises toxicológicas com finalidade forense.
   d. A toxicologia forense é utilizada com finalidade legal (judicial).
   e. Chapuis foi o primeiro a classificar sistematicamente os agentes tóxicos.

3. Qual dos seguintes critérios NÃO é utilizado rotineiramente para avaliar a adulteração de amostras de urina coletadas para verificação do uso de drogas?
   a. Ureia
   b. PH
   c. Cor
   d. Densidade específica
   e. Creatinina

4. Qual concentração de álcool no sangue é a mais comumente utilizada como definição legal de "dirigir sob influência de etanol"?
   a. 0,04
   b. 0,06
   c. 0,08
   d. 0,12
   e. 0,16

5. Qual dos seguintes toxicantes NÃO é analisado pela técnica analítica citada?
   a. Benzodiazepínicos – CG-EM
   b. Ibuprofeno – CCD/CLAE
   c. Anfetamina – imunoensaios
   d. Barbitúricos – CG/imunoensaios
   e. Etanol – imunoensaios

6. Para qual dos toxicantes a seguir a amostra de soro NÃO é indicada para análises toxicológicas?
   a. Etanol
   b. Cocaína
   c. Aspirina
   d. Barbitúricos
   e. Ibuprofeno

7. Qual dos fatores a seguir tem MENOR importância para determinar a variabilidade da resposta na farmacoterapia?
   a. Interações farmacológicas
   b. Distribuição do fármaco para os tecidos
   c. Índice de massa corpórea
   d. Condições patológicas
   e. Taxa de metabolismo

8. Qual das afirmações a seguir é FALSA em relação ao estado de equilíbrio?
   a. As concentrações no estado de equilíbrio são proporcionais à dose/intervalo de dose.
   b. O estado de equilíbrio é atingido após aproximadamente quatro meias-vidas.
   c. As concentrações no estado de equilíbrio são proporcionais à F/Cl.
   d. O monitoramento da concentração do fármaco no estado de equilíbrio presume que uma concentração efetiva está presente.
   e. Flutuações em concentrações são aumentadas nos casos de fármacos com lenta taxa de absorção.

9. Qual das amostras/métodos seguintes representa procedimento indireto para determinar a concentração de agente tóxico ou seu produto de biotransformação?
   a. Análise em sangue
   b. Amostras de cabelo
   c. Análise em urina
   d. Detecção de adutos de hemoglobina
   e. Análise em ar exalado

10. Qual afirmação a seguir a respeito da toxicologia analítica/forense é VERDADEIRA?
    a. Antidepressivos são frequentemente usados para incapacitar vítimas.
    b. É fácil correlacionar o uso de maconha com acidentes de trânsito.
    c. A heroína é a droga de abuso identificada com mais frequência em amostras de toxicologia de emergência.
    d. Os toxicologistas desempenham papel importante nos tribunais quando prestam testemunho.
    e. Intoxicações por etanol frequentemente levam a óbito.

CAPÍTULO

32

Toxicologia Clínica

Louis R. Cantilena Jr.

ESTRATÉGIA CLÍNICA PARA O TRATAMENTO DO PACIENTE INTOXICADO
- Estabilização clínica
- História clínica do paciente intoxicado
- Exame físico
- Avaliação laboratorial
- Exames radiológicos
- Prevenção de absorção continuada do agente tóxico
- Aumento da eliminação do agente tóxico
- Uso de antídotos em intoxicações
- Medidas de suporte do paciente intoxicado

CONCLUSÃO

EXEMPLOS DE CASOS DE INTOXICAÇÃO
- Aspirina
- Ferro
- Chumbo
- Solvente hidrocarboneto alifático
- Metanol
- Organofosforados
- Planta *Datura stramonium* (Jimsom Weed)
- Interação entre múltiplos fármacos
- Hormônio da tireoide
- Anfetaminas
  - Cogumelos *Clitocybe dealbata*
- Intoxicação por anticolinérgicos
- Fenilpropanolamina

PONTOS-CHAVE

- A toxicologia clínica abrange a experiência nas áreas de toxicologia médica, toxicologia aplicada e informação toxicológica.
- Componentes importantes na abordagem inicial do paciente intoxicado incluem sua estabilização, avaliação clínica (história, exame físico, análises laboratoriais e radiologia), prevenção de absorção continuada do agente tóxico, aumento da eliminação do agente tóxico, administração de antídotos e medidas de suporte com seguimento clínico.

ESTRATÉGIA CLÍNICA PARA O TRATAMENTO DO PACIENTE INTOXICADO

As seguintes etapas gerais representam componentes importantes na abordagem inicial do paciente intoxicado:

1. estabilização do paciente;
2. avaliaçào clínica (história, exame físico, análises laboratoriais e exames radiológicos);
3. prevenção de absorção continuada do agente tóxico;
4. aumento da eliminação do agente tóxico;
5. administração de antídotos; e
6. medidas de suporte e seguimento clínico.

Estabilização clínica

A prioridade no tratamento do paciente intoxicado é a estabilização. Avaliação de sinais vitais e da efetividade de manuten-

TABELA 32.1 Achados clínicos das síndromes tóxicas

	Pressão arterial	Pulso	Temperatura	Pupilas	Pulmões	Abdome	Sinais neurológicos
Simpaticomimética	Aumento	Aumento	Aumento leve	Midríase	SA*	SA	Hiperalerta, hiper-reflexia
Anticolinérgica	Aumento leve ou SA	Aumento	Aumento	Midríase	SA	Redução de ruídos	Estado mental alterado
Colinérgica	Redução leve	Diminuição SA	Miose	Aumento dos ruídos brônquicos	Aumento de ruídos intestinais	Estado mental alterado	Redução de ruídos intestinais
Opioide	Diminuição	Diminuição	Diminuição	Miose	SA ou crepitantes	Redução de ruídos intestinais	Redução do nível de consciência

* SA = sem alteração.

ção da respiração e da circulação são as preocupações iniciais. Alguns agentes tóxicos e fármacos podem provocar convulsões precoces na evolução do quadro. Os passos e procedimentos clínicos incorporados à estabilização do paciente gravemente intoxicado são numerosos e incluem, quando apropriado, suporte ventilatório, circulatório e oxigenação. Em pacientes gravemente doentes, algumas vezes, as intervenções terapêuticas devem ser iniciadas mesmo antes de o paciente ser estabilizado.

História clínica do paciente intoxicado

A meta primária na obtenção da história do paciente intoxicado é determinar, se possível, a substância ingerida ou à qual o paciente se expôs, bem como a extensão e o tempo de exposição. No caso de uma tentativa de suicídio, os pacientes podem não fornecer história alguma ou dar informações incorretas, a fim de aumentar as possibilidades de serem bem-sucedidos no intento de produzirem dano a si mesmos. As fontes de informação comumente empregadas nessas situações incluem membros da família, profissionais de atendimento pré-hospitalar que estiveram no local da ocorrência, farmacêuticos que podem, às vezes, informar sobre medicamentos recentemente dispensados à vítima, ou o empregador, que pode informar sobre produtos químicos disponíveis no local de trabalho.

Ao estimar o grau de exposição a um agente tóxico, deve-se, em geral, maximizar a possível dose a que o paciente se expôs. Isso quer dizer que deve-se assumir que o conteúdo inteiro do frasco de medicamentos foi ingerido, que o volume total de líquido de um recipiente foi consumido ou que a concentração máxima de um contaminante atmosférico estava presente no ambiente, em caso de pacientes intoxicados pela via inalatória.

Com uma estimativa da dose, o toxicologista pode acessar várias fontes de informação a fim de determinar qual a dimensão dos efeitos clínicos esperados da exposição. A estimativa da toxicidade esperada é de grande auxílio na triagem dos pacientes intoxicados. A determinação da hora exata da exposição ao agente tóxico é, frequentemente, o aspecto mais difícil da história clínica no momento de estabelecer o tratamento do paciente intoxicado.

A obtenção de uma história precisa do paciente intoxicado pode ser desafiadora e, em alguns casos, infrutífera. Quando não se pode obter a história, o toxicologista clínico fica sem um quadro claro da exposição. Nessas situações, o tratamento é realizado empiricamente como intoxicação por "ingestão de agente desconhecido".

Exame físico

Um exame físico completo é necessário para avaliar a condição do paciente, seu estado mental, e, se este estiver alterado, determinar possíveis causas adicionais, tais como trauma ou infecção do sistema nervoso central. Sempre que possível, os parâmetros do exame físico do paciente são classificados em categorias amplas, denominadas *síndromes tóxicas*. Trata-se de um grupo de sinais clínicos que, tomados em conjunto, estão provavelmente associados com a exposição a certas classes de agentes tóxicos. A classificação do quadro clínico dos pacientes dentro de síndromes tóxicas permite iniciar o tratamento de forma racional, com base no grupo de agentes causais mais provável, mesmo quando não se conheça a exata natureza do agente. A Tabela 32.1 lista os achados clínicos das principais síndromes tóxicas. Às vezes, um odor característico, detectado na respiração ou nas roupas do paciente pode apontar para a exposição a um agente específico (Tab. 32.2).

Avaliação laboratorial

A Tabela 32.3 lista fármacos e outros agentes químicos que costumam ter suas dosagens disponíveis de imediato em hospitais. Como se pode constatar, o número de agentes para os quais é possível a detecção de modo rápido é extremamente limitado

TABELA 32.2 Odores característicos associados com intoxicações

Odor	Agente tóxico potencial
Amêndoas amargas	Cianeto
Ovos	Sulfeto de hidrogênio, mercaptanos
Alho	Arsênico, organofosforados, DMSO, tálio
Bolinhas antitraças	Naftalina, cânfora
Vinil	Etclorvinol
Óleo de Wintergreen*	Salicilato de metila

* N. de T.: Wintergreen refere-se a um produto de uso medicinal muito popular nos Estados Unidos, usado topicamente para massagear locais doloridos, como articulações (rubefaciente). O principio ativo é o salicilato de metila.

TABELA 32.3 Fármacos, outros agentes e parâmetros comumente mensurados em atendimento hospitalar

Paracetamol	Osmolaridade
Acetona	Fenobarbital
Carbamazepina	Fenitoína
Carboxiemoglobina	Procainamida/NAPA
Digoxina	Quinidina
Etanol	Salicilatos
Gentamicina	Teofilina
Ferro	Tobramicina
Lítio	Ácido valproico
Metemoglobina	

TABELA 32.4 Diagnóstico diferencial de acidose metabólica com gap aniônico elevado: "AT MUD PILES"*

A	Álcool (cetoacidose alcoólica)
T	Tolueno
M	Metanol
U	Uremia
D	Diabetes (cetoacidose diabética)
P	Paraldeído
I	Ferro,** isoniazida
L	Ácido lático
E	Etilenoglicol
S	Salicilatos

* N. de T.: O termo é um mnemônico montado com as iniciais, em inglês, dos agentes químicos e distúrbios metabólicos que ocorrem com *gap* aniônico elevado.
** N. de T.: *Iron*, em inglês.

comparado com o universo de agentes que pode causar intoxicações. Isso enfatiza a importância do reconhecimento das síndromes tóxicas e de o toxicologista iniciar o tratamento geral e de suporte no paciente intoxicado por agente desconhecido.

Para substâncias que podem ser medidas de forma rápida em serviços de emergência, as análises quantitativas podem, com frequência, fornecer orientação tanto para o prognóstico quanto para o tratamento.

Correlações preditivas entre concentração plasmática e desfecho clínico, e/ou concentrações para as quais intervenções terapêuticas são requeridas, estão disponíveis para vários agentes, como salicilatos, lítio, digoxina, ferro, fenobarbital e teofilina. Alguns autores identificaram "níveis de ação" ou limiares tóxicos para as concentrações plasmáticas medidas de vários fármacos e agentes químicos. Geralmente, esses valores representam concentrações médias das respectivas substâncias, que demonstraram, retrospectivamente, produzir um efeito danoso significativo.

Devido à disponibilidade limitada de análises laboratoriais "diagnósticas" para agentes tóxicos, os toxicologistas utilizam os dados laboratoriais obtidos rotineiramente – em especial os *gaps* aniônico e osmolar – para determinar quais agentes podem ter sido ingeridos. Um *gap* aniônico ou osmolar anormal aponta para um diagnóstico diferencial que considere alguma exposição significativa. Ambos os cálculos são utilizados como ferramentas diagnósticas quando a história clínica sugere intoxicação e a condição do paciente é consistente com exposição a agentes conhecidos como causadores da elevação desses parâmetros (como acidose metabólica, alterações do estado mental, etc.).

O *gap* aniônico é calculado pela diferença entre a concentração sérica de Na^+ Na e a soma das concentrações dos íons Cl e HCO_3. O *gap* normal é < 12. Quando há evidência laboratorial de acidose metabólica, o achado de um *gap* aniônico elevado pode sugerir toxicidade sistêmica proveniente de um número limitado de agentes (Tab. 32.4).

O segundo parâmetro calculado a partir dos exames bioquímicos é o *gap* osmolar. O *gap* osmolar é calculado como a diferença numérica entre a osmolaridade sérica medida e a osmolaridade sérica calculada a partir dos dados laboratoriais obtidos referentes às concentrações séricas de Na^+ sódio, glicose e nitrogênio ureico sérico (BUN).* O *gap* osmolar normal é < 10 mOsm. Um *gap* osmolar elevado sugere presença de uma substância osmoticamente ativa (metanol, etanol, etilenoglicol e isopropanol) no plasma que não corresponde às concentrações de sódio, glicose e BUN.

Exames radiológicos

O uso de radiografias para a avaliação de sobredosagens de medicamentos ou ingestão de outros agentes tóxicos é relativamente limitado. Em geral, radiografias simples podem detectar quantidades significativas de medicamentos de uso oral contendo sais de ferro ou potássio. Além disso, certas formulações com comprimidos revestidos ou certos produtos de liberação lenta são também radiopacos.

As radiografias mais úteis em casos de sobredosagens ou intoxicações são as de tórax e abdome e a tomografia computadorizada (TC) de crânio. A radiografia abdominal tem sido usada para detectar ingestão recente de tintas de parede contendo chumbo** por crianças e ingestão de hidrocarbonetos halogenados, como tetracloreto de carbono e clorofórmio, que podem ser visualizados como um líquido radiopaco na lúmen intestinal. Por fim, a radiografia simples de abdome tem auxiliado na localização de corpos estranhos no trato gastrintestinal (GI), como ocorre com os *body packers*, pessoas que traficam substâncias ilegais engolindo invólucros de látex ou plástico preenchidos com cocaína ou outras drogas. Às vezes, esses dispositivos de armazenamento rompem-se e a droga é liberada no sistema digestório, com consequências sérias e, algumas vezes, fatais.

* N. de R.T.: O nitrogênio ureico sérico (BUN) é o parâmetro comumente usado na literatura em língua inglesa, e com valores normais correspondendo entre 8 e 25 mg/dL. No Brasil, utilizamos a dosagem sérica de ureia (valores normais: 15 a 45 mg/dL).

** N. de T.: Há décadas não são mais permitidos pigmentos contendo chumbo (Pb) em tintas de parede. Nos Estados Unidos, populações de baixa renda habitam prédios muito antigos nas grandes cidades, em cujos revestimentos de paredes ainda se encontram pigmentos com chumbo, colocando em risco de exposição a esse metal principalmente crianças pequenas.

Radiografias simples e outros tipos de diagnóstico por imagem em toxicologia clínica podem ser extremamente valiosos para o diagnóstico de uma patologia induzida por agente tóxico. A detecção de um edema pulmonar não cardiogênico induzido por medicamentos, por exemplo, está associada a intoxicações por salicilatos e agonistas opioides. Outro exemplo do uso de imagem em toxicologia clínica é a TC de cérebro. Exposição excessiva a monóxido de carbono (CO) tem sido associada com lesões nas TCs de cérebro, constituindo-se de áreas de baixa densidade na substância branca e nos gânglios da base, especialmente no *globus pallidus*.

Prevenção de absorção continuada do agente tóxico

Durante a fase inicial do tratamento da intoxicação ou intervenção em uma exposição tóxica pela via oral, inalatória ou dérmica, existe uma oportunidade de prevenir a absorção posterior do agente tóxico, minimizando a quantidade total que atingirá a circulação sistêmica. Para agentes que se apresentam pela via inalatória, a principal intervenção usada para prevenir absorção futura envolve a remoção do paciente do ambiente onde o agente se encontra e o fornecimento de ventilação e oxigenação adequadas. Para exposições dérmicas, vestimentas contaminadas pelo agente tóxico devem ser removidas e a pele deve ser lavada com água e sabão neutro.

Os quatro métodos primários para prevenir a absorção continuada de um agente tóxico por via oral são indução de êmese com xarope de ipeca, lavagem gástrica, administração oral de carvão ativado e irrigação intestinal total. Embora potencialmente indicado para indivíduos que estejam distantes de um serviço médico, o uso do xarope de ipeca para indução de êmese no tratamento de ingestões com potencial tóxico tem declinado. O risco de cárdio e neurotoxicidade e a baixa eficácia na remoção de toxicantes limitam seu uso. Da mesma forma, a lavagem gástrica, que involve a introdução de uma sonda orogástrica no estômago e a remoção por aspiração do seu conteúdo, seguida de instilação repetida de fluido e de novas aspirações até que o efluente retorne limpo, é limitada pelo risco de vômito com aspiração pulmonar e pelas evidências de baixa eficácia.

Por muitos anos, o carvão ativado administrado por via oral tem sido incorporado de forma rotineira no tratamento inicial do paciente intoxicado por essa via. O termo *ativado* significa que o carvão foi especialmente processado para ser mais eficiente na adsorção dos agentes tóxicos.

A utilidade da irrigação intestinal total para o paciente intoxicado é muito limitada. Uma absorção considerável do toxicante pode ocorrer antes que o procedimento "lave" o lúmen intestinal livrando-o do material não absorvido.

Aumento da eliminação do agente tóxico

Existem vários métodos disponíveis para aumentar a eliminação de agentes tóxicos assim que eles tenham chegado à circulação sistêmica. Os métodos primários hoje empregados para esse fim incluem alcalinização da urina, hemodiálise, hemoperfusão, hemofiltração, plasmaferese ou exsanguineotransfusão e carvão ativado seriado pela via oral.

O uso da alcalinização urinária resulta no aumento do *clearance* de ácidos fracos. O princípio básico é aumentar o pH do filtrado urinário a um nível suficiente para ionizar o ácido fraco e evitar a reabsorção tubular da molécula. Embora haja, potencialmente, vantagem similar a ser obtida com a acidificação da urina a fim de aumentar a depuração de bases fracas, esse método não é utilizado porque a insuficiência renal aguda e distúrbios acidobásico e eletrolítico estão associados à acidificação.

TABELA 32.5 Agentes para os quais a hemodiálise mostrou-se efetiva como modalidade de tratamento para intoxicação

Álcoois	Meprobamato
Antibióticos	Metformina
Ácido bórico	Paraldeído
Brometo	Fenobarbital
Cálcio	Potássio
Hidrato de cloral	Salicilatos
Fluoretos	Estricnina
Iodetos	Teofilina
Isoniazida	Tiocianatos
Lítio	Ácido valproico

As técnicas de diálise, seja diálise peritoneal ou hemodiálise, baseiam-se na passagem do agente tóxico através de uma membrana dialisadora semipermeável para que ele possa, subsequentemente, ser removido. A hemodiálise incorpora uma bomba para passar o sangue junto à membrana dialisadora, o que permite que agentes a ela permeáveis atravessem-na e atinjam equilíbrio. Alguns fármacos estão ligados a proteínas plasmáticas e, assim, não podem passar através da membrana dialisadora; outros estão distribuídos principalmente nos tecidos e assim, não estão concentrados no sangue, tornando a diálise inaplicável. A hemodiálise tem-se mostrado clinicamente efetiva no tratamento de intoxicações decorrentes de fármacos e agentes tóxicos apresentados na Tabela 32.5.

A técnica de hemoperfusão é similar à de hemodiálise, exceto pelo fato de que não há membrana dialisadora ou dialisado (fluido de diálise) envolvidos no procedimento. O sangue do paciente é bombeado através de um cartucho de perfusão, no qual entra em contato direto com o material de asorção (em geral, carvão ativado). A ligação proteica não interfere significativamente na remoção por hemoperfusão.

A técnica de hemofiltração é relativamente nova em relação às suas aplicações em toxicologia clínica. Como no caso da hemodiálise, o sangue do paciente é passado por tubos de fibra ocos, e um ultrafiltrado do plasma é removido por pressão hidrostática a partir do lado da membrana onde está o sangue. A pressão de perfusão da técnica é gerada pela pressão arterial do paciente (na hemofiltração arteriovenosa) ou por uma bomba (na hemofiltração venovenosa). O volume de fluido e eletrólitos removidos no ultrafiltrado é reposto ao paciente com soluções estéreis por via intravenosa.

O uso tanto de plasmaferese como de exsanguineotransfusão tem sido relativamente limitado no campo da toxicologia clínica. Embora essas técnicas garantam a vantagem potencial de serem capazes de remover agentes tóxicos de alto peso molecular ou li-

TABELA 32.6 Agentes para os quais o carvão ativado em múltiplas doses mostrou-se um meio efetivo de aumento da depuração corporal

Carbamazepina
Dapsona
Digoxina
Digitoxina
Nadolol
Fenobarbital
Salicilatos
Teofilina

gados a proteínas plasmáticas, sua utilidade clínica no tratamento de intoxicações tem sido limitada. A troca de plasma, ou plasmaferese, envolve a remoção do plasma e sua substituição por plasma congelado de doadores, albumina ou ambos, com fluidos intravenosos. Os riscos e as complicações dessa técnica incluem reações alérgicas, complicações infecciosas e hipotensão. A exsanguineotransfusão envolve a substituição do sangue do paciente por sangue de doadores. O uso dessa técnica no tratamento de intoxicações é incomum e, principalmente, restrito a superdosagem inadvertida de medicamentos em neonatos ou recém-nascidos prematuros.

A administração oral seriada de carvão ativado, também referido como carvão ativado em múltiplas doses (CAMD), demonstrou ser capaz de aumentar a depuração sistêmica de vários fármacos. Acredita-se que o mecanismo responsável pelo aumento da depuração extrarrenal produzida pelas doses orais repetidas do carvão ativado seja a passagem (efluxo) transluminal do fármaco a partir do sangue circulante no trato gastrintestinal. O carvão ativado presente no lúmen intestinal atuaria como um recipiente para o agente tóxico. Um gradiente de concentração é mantido, e o agente tóxico passa, continuamente, para o lúmen intestinal, na qual é adsorvido pelo carvão. Além disso, acredita-se que o CAMD produza seu efeito benéfico interrompendo a circulação êntero-hepática de fármacos. A técnica envolve a administração oral contínua do carvão ativado, além da dose inicial, a cada 2 ou 4 horas. Uma alternativa é a administração de uma dose de ataque via sonda orogástrica ou nasogástrica seguida de infusão contínua intragástrica. Uma lista de agentes para os quais o CAMD demonstrou ser um meio efetivo de aumento da depuração corporal é fornecida na Tabela 32.6.

Uso de antídotos em intoxicações

Um número relativamente pequeno de antídotos específicos está disponível para o tratamento de intoxicações. A Food and Drug Administration (FDA) tem oferecido incentivos para que as empresas desenvolvam fármacos para doenças ou condições raras por meio do Orphan Drug Act.

O mecanismo de ação dos vários antídotos é bem diferente. Por exemplo, um agente quelante ou um fragmento Fab antidigoxina agirão ligando-se fisicamente ao agente tóxico, evitando que este exerça seu efeito deletério *in vivo* e, em alguns casos, facilitando a depuração corporal do agente. Outros antídotos antagonizam farmacologicamente o efeito do agente tóxico. A atropina, um agente antimuscarínico, anticolinérgico, é usada para antagonizar farmacologicamente, no receptor, os efeitos de inseticidas organofosforados que produzem efeitos colinérgicos, muscarínicos letais. Certos agentes exercem seus efeitos de antídoto reagindo quimicamente com sistemas biológicos para aumentar a capacidade de detoxificação do agente tóxico. O nitrito de sódio, por exemplo, é administrado a pacientes intoxicados por cianeto para produzir a formação de metemoglobina, que serve como um sítio alternativo de ligação para o cianeto, tornando-o menos tóxico para o restante do organismo.

Medidas de suporte do paciente intoxicado

O período de tratamento de suporte da intoxicação é muito importante, não apenas porque há certas intoxicações que apresentam toxicidade tardia, mas porque há, também, agentes tóxicos que exibem sua toxicidade em múltiplas etapas. O monitoramento clínico permanente pode detectar essas complicações em etapas tardias e permitir uma intervenção médica imediata.

Um outro componente importante do tratamento de suporte é a avaliação psiquiátrica. Para intoxicações intencionais, como tentativas de suicídio, uma avaliação psiquiátrica formal do paciente deve ser feita antes da alta. Em muitos casos, não é possível fazer uma entrevista psiquiátrica nas fases iniciais do tratamento e da avaliação. Tão logo o paciente tenha sido estabilizado e esteja apto a se comunicar, uma avaliação psiquiátrica deve ser obtida.

CONCLUSÃO

A toxicologia clínica abrange o conhecimento experiente nas especialidades de toxicologia médica, toxicologia aplicada e contribuição de clínicos especializados em informação toxicológica. A ciência clínica evoluiu significativamente até o estágio atual da disciplina nos últimos 50 anos ou mais. A incorporação de recomendações práticas baseadas em evidências e focadas no desfecho tem melhorado muito a avaliação crítica das modalidades de tratamento de intoxicações. Uma abordagem diagnóstica cuidadosa do paciente intoxicado é essencial, pois uma história médica adequada costuma estar ausente ou não ser confiável. O uso habilidoso de antídotos é um componente importante na prática da toxicologia médica. Uma pesquisa continuada aumentará o repertório de tratamentos efetivos para intoxicações e, por fim, irá melhorar a prática clínica.

EXEMPLOS DE CASOS DE INTOXICAÇÃO

Existem, na literatura, muitos casos que descrevem os problemas clínicos associados a substâncias tóxicas. Alguns poucos, extraídos de seus relatos originais, encontram-se a seguir. É imperativo que o leitor compreenda que a medicina está constantemente mudando e que as abordagens terapêuticas mencionadas nos casos podem não refletir a prática padrão atual. O leitor que desejar uma discussão completa dos casos deve encaminhar-se às seguintes referências:

1. Bates N, Edwards N, Roper J, Volans G (eds): *Paediatric Toxicology. Handbook of Poisoning in Children*. New York: Stockton Press, 1997.
2. Erickson TB (ed): *Pediatric Toxicology: Diagnosis and Management of the Poisoned Child*. New York: McGrawHill, 2005.
3. Gossel TA, Bricker JD: *Principles of Clinical Toxicology*, 3rd ed. New York: Raven Press, 1994.
4. Osterhoudt KC, Perrone J, DeRoos F, Henretiz FM: *Toxicology Pearls*. Philadelphia: Elsevier Mosby, 2004.

Aspirina

Uma mulher de 25 anos, com história de depressão, está fazendo uso diário de sertralina. Aproximadamente 3 horas antes da entrada na emergência, ingeriu um frasco inteiro (possivelmente 100 comprimidos)* de aspirina (325 mg de ácido acetilsalicílico por comprimido). Vomitou duas vezes, eliminando fragmentos dos comprimidos ingeridos em cada episódio. Os sinais vitais da paciente eram pressão arterial 180/90 mmHg, frequência cardíaca de 100 batimentos por minuto e frequência respiratória em torno de 30 ciclos/min. Sua temperatura era de 40°C, e ela se queixava de zumbido. Seus dados laboratoriais eram consistentes com acidose metabólica e alcalose respiratória. Tratamento de suporte e infusão intravenosa de eletrólitos foram iniciados. Bolsas de gelo foram utilizadas para baixar sua temperatura corporal.

Ferro

Uma mulher de 23 anos ingeriu de 50 a 60 comprimidos de sulfato ferroso. Dentro de 1 hora, ela desenvolveu cólicas abdominais e vomitou um líquido marrom-escuro. Muitas horas depois, vomitou sangue vivo. Aproximadamente 8 horas após a ingestão, foi internada. Seus sinais vitais incluíam pressão arterial 90/60 mmHg, frequência cardíaca de 95 batimentos/min, frequência respiratória de 16 ciclos/min e temperatura oral de 36,1°C. O exame físico revelou dor epigástrica leve, com ruídos intestinais normais. Valores laboratoriais anormais incluíam hematócrito e hemoglobina baixos, acidose leve e ferro sérico elevado. Após lavagem gástrica com bicarbonato de sódio a 5% e soro fisiológico por, aproximadamente, 1 hora, foi iniciada infusão intravenosa de deferoxamina 15 mg/kg/h e mantida por 24 horas, até que a urina não estivesse mais tingida de vermelho. Ela recebeu alta no 3º dia.

Chumbo

Uma mulher de 39 anos foi internada no hospital com dores difusas e anemia. Ela havia machucado as costas em um acidente de automóvel há 6 meses e vinha tomando um produto natural, que obteve na internet, para analgesia. Com a continuidade do tratamento, ela se tornou irritável e, agora, tem dores nos joelhos e quadris. Era difícil para ela segurar objetos e, frequentemente, sentia-se constipada. Os resultados laboratoriais anormais incluíam hematócrito baixo, contagem elevada de reticulócitos e esfregaços de sangue periférico mostrando anemia hipocrômica, microcítica, com pontilhado basófilo das hemácias. Sintomas e dados laboratoriais sugeriam intoxicação por chumbo. Sua concentração de chumbo no sangue era 9 vezes maior do que o valor de referência. A paciente iniciou $CaNa_2$-EDTA por via intravenosa, juntamente com fluidos, e 24 horas mais tarde passou a receber succimer. Seus níveis de chumbo no sangue normalizaram no 7º dia.

Solvente hidrocarboneto alifático**

Um homem de 40 anos, morador de rua, injetou em si mesmo, por via intravenosa, 3 mL de fluido de isqueiro. Logo depois, apresentou dores em queimação no tórax e dispneia. Na manhã seguinte, apresentou dor torácica pleurítica importante, desconforto epigástrico e movimentos respiratórios curtos e rápidos. Na admissão, sua temperatura era de 37,8 °C, pressão arterial 115/65 mmHg, frequência respiratória de 41 ciclos/min, com crepitações em ambas as bases, e frequência cardíaca de 90 batimentos/min. A radiografia de tórax mostrou infiltrados algodonosos difusos. No 2º dia após a internação, a respiração variava entre 35 e 55/min, e seu escarro continha sangue e inúmeros leucócitos polimorfonucleares (PMNs). Foi tratado com glicocorticoide. A radiografia final, 6 meses depois, não mostrou anormalidades residuais.

Metanol

Uma mulher de 55 anos queixou-se de branqueamento da visão. No anoitecer do dia anterior, havia consumido três copos cheios de um vinho caseiro. Na admissão, apresentava 31 ciclos respiratórios/minuto, irregulares e rápidos; pressão arterial 170/110 mmHg; e frequência cardíaca de 114 batimentos/min. Os dados de laboratório indicavam acidose e uma concentração sanguínea elevada de metanol. Após tratamento com fomepizole, bicarbonato de sódio e hemodiálise, o nível de metanol no sangue retornou à linha de base. O exame oftalmológico revelou apenas discreta palidez do disco ótico; em relação ao restante do quadro clínico, a recuperação foi completa.

Organofosforados

Durante seu descanso após o almoço, um menino de 4 anos vomitou. Poucas horas depois, queixou-se de dor abdominal e cefaleia, passou a apresentar tremores e a mancar. No hospital, o menino apresentou hipotonia e entrou em coma. Suas pupilas estavam mióticas com diâmetro de 1 mm. Não foram observadas convulsões, mas ele apresentava fasciculações em uma das coxas. Não havia evidências sugerindo ingestão de qualquer substância tóxica ou trauma prévio. Os demais membros da família permaneciam bem. O menino apresentava pressão arterial 125/58 mmHg, frequência cardíaca de 128 batimentos/min e frequência respiratória de 28/min. Os achados laboratoriais não eram dignos de nota, e um rastreamento (*screening*) toxicológico foi negativo

* N. de T: Nos Estados Unidos, a aspirina é comercializada em frascos contendo muitos comprimidos, diferentemente do Brasil, onde o fármaco é disponível apenas em cartelas, com não mais do que 10 a 20 comprimidos.

** N. de T: No original aparece o termo "Naphta", usado em língua inglesa e nos Estados Unidos para designar, genericamente, solventes hidrocarbonetos de cadeia aberta (alifáticos), como é o caso do fluido de isqueiro. Preferimos o título englobando o grupo químico, pois os danos tóxicos e as repercussões clínicas da exposição a esses solventes são compartilhadas por todos, variando apenas em intensidade de acordo com as propriedades físico-químicas de cada um (como tensão de vapor e tamanho da cadeia, entre outras).

para fármacos sedativos e hipnóticos, álcool, metais pesados, salicilatos, fenotiazínicos e opioides. Duas horas após a admissão, recebeu 0,15 mg de atropina por via intravenosa e 500 mg de pralidoxima (2-PAM). Um aumento da atividade no eletroencefalograma (EEG) foi observado dentro de 2 minutos e, por fim, o nível de consciência foi restaurado. Uma conversa posterior com a mãe da criança revelou que esta estava junto enquanto ela aplicava paration para combater afídeos (insetos sugadores de seiva) nas plantas do seu jardim.

Planta datura stramonium (Jimsom Weed)*

Um estudante universitário, 19 anos, foi encontrado com rubor facial, comportamento incoerente e alucinações. Na chegada ao departamento de emergência, estava comatoso, com pressão arterial 165/95 mmHg, frequência cardíaca de 46 batimentos/min e temperatura 37,2°C. Suas pupilas estavam dilatadas e isocóricas (com igual diâmetro), mas com pouca resposta à luz. Sua pele estava quente e seca. A motricidade ocular extrínseca, avaliada pela manobra dos olhos de boneca (*doll's eye movements*), mostrou-se intacta. Os reflexos tendinosos profundos estavam aumentados (hiper-reflexia). Ele, ocasionalmente, mostrava episódios de abalos mioclônicos. Após 1 hora da admissão, os sinais vitais do paciente começaram a diminuir. Uma intoxicação por um agente anticolinérgico foi suspeitada, e, então, foi administrado salicilato de fisostigmina IV. Dentro de 15 minutos ele começou a responder ao tratamento. Apresentou melhora no nível de alerta e a respondeu a comandos verbais. Ele admitiu, então, ter ingerido *loco seeds*. Seu estado neurológico melhorou, e ele recebeu alta sem danos neurológicos aparentes.

Interação entre múltiplos fármacos

Um homem branco, 76 anos, foi trazido por ambulância à sala de emergência após sua mulher tê-lo visto desmaiar na escada de casa. O paciente está inconsciente, hipotenso (pressão arterial 90/55 mmHg), taquicárdico (100 batimentos/min) e taquipneico (22 ciclos/min). O enchimento capilar é muito lento, e as extremidades estão frias. Uma cicatriz vertical de 20 cm está presente sobre o esterno. A esposa do paciente revela que ele fora submetido a sua segunda CABG (*coronary artery bypass surgery*, ou cirurgia de revascularização miocárdica) há 8 semanas. O eletrocardiograma (ECG) está essencialmente normal, exceto por ondas Q significativas em derivações II,III e V_F, indicando infarto de miocárdio prévio em parede inferior. O resto do exame físico está normal, exceto por um edema pré-tibial de uma cruz até a metade da perna e um exame retal positivo para presença de sangue. O paciente foi estabilizado com fluidos IV.

A esposa do paciente traz um pacote contendo todas as medicações do marido: alprazolam 0,5 mg via oral duas vezes ao dia, se necessário; digoxina 0,250 mg via oral diariamente; enalapril 20 mg via oral diariamente; naproxeno sódico 500 mg via oral duas vezes ao dia; furosemida 20 mg via oral duas vezes ao dia; sinvastatina 20 mg via oral diariamente; e varfarina 5 mg via oral todas as noites. Ela relata que o marido tinha "estado tão indisposto do estômago" que tinha eliminado "fezes negras como alcatrão nos últimos 2 dias" e começou a tomar regularmente cimetidina, obtida sem prescrição médica, desde então. As seguintes questões ou dúvidas, então, apresentam-se:

1. Qual medicamento é o maior responsável pela indisposição gástrica do paciente antes de ele iniciar a cimetidina?
2. Por que o paciente está em choque? Ele está sangrando?
3. Qual exame pode confirmar sua suspeita ou hipótese?

Um homem de 21 anos foi trazido à sala de emergência logo após a ingestão estimada em 2,2 g de sulfato de anfetamina em tentativa de suicídio. No exame realizado 1 hora depois, ele estava bem orientado e agitado. Rapidamente, ficou mais inquieto, hipercinético e incoerente. Os achados de exame físico incluíam: frequência cardíaca de 168 batimentos/min, pressão arterial 160/80 mmHg, temperatura de 42,4°C e movimentos respiratórios rápidos e superficiais de 48/min. Sua pele estava pálida e levemente úmida. As pupilas estavam dilatadas, com diâmetro em torno de 6 mm, reagindo minimamente à luz. As conjuntivas estavam edematosas. Não era possível mover sua cabeça em qualquer direção, mas as extremidades eram facilmente mobilizáveis e os reflexos normais. O tratamento consistiu de lavagem gástrica vigorosa, seguida de diazepam. Sua temperatura decresceu até 38,6°C após imersão em um banho gelado e massagem. Depois de 12 horas da admissão, sua temperatura retornou ao normal.

Hormônio da tireoide

Um menino de 3 anos foi trazido ao hospital após seu pai tê-lo encontrado brincando com seu frasco de Synthroid. Com base no número de comprimidos que faltavam, foi feita uma estimativa de que o menino consumira 12 g de tiroxina. Seu estômago foi esvaziado dos fragmentos por lavagem gástrica até que o líquido retornasse limpo, e ele recebeu 30 g de carvão ativado com 8,3 g de sulfato de magnésio. A concentração de T4 no sangue foi de 180 μg/dL e a de T3 de 67 μg/dL. No dia seguinte, a criança teve uma taquicardia supraventricular com 160 batimentos/min. Recebeu propranolol para controle da taquicardia. No 3º dia, apresentou sudorese e diarreia. O propranolol foi descontinuado no 7º dia, e ele recebeu alta com frequência de pulso em repouso de 120 batimentos/min.

Anfetaminas

Cogumelos *Clitocybe dealbata***

Uma mulher de 25 anos colheu cogumelos silvestres. Após tê-los cozido e ingerido, teve náuseas e sudorese.

Sua família notou que ela estava confusa, e ela foi transportada até um hospital. Na chegada, 30 minutos depois, ela estava vomitando, tinha diarreia profusa e estava agitada, desorientada, com alucinações visuais. Seus sinais vitais mostravam pressão arterial 100/60 mmHg, frequência cardíaca de 60 batimentos/min e temperatura de 36,6°C. O exame físico mostrou fasciculações musculares generalizadas, palidez e pupilas mióticas. Após lava-

* N. de T: *Jimsom weed* e *Loco seeds* são nomes populares utilizados nos Estados Unidos para referenciar partes da planta ou a planta *Datura stramonium*, um vegetal arbustivo rico nos alcaloides hiosciamina e atropina usado com fins alucinógenos. O tratamento referido no caso, fisostigmina, é um antídoto para intoxicações graves por anticolinérgicos, não disponível comercialmente no Brasil.

** N. de T.: *Clitocybe dealbata*, conhecido popularmente na América do Norte como "clitocibe branco ou marfim", é um cogumelo tóxico que contém muscarina (um parassimpaticomimético). Pode ser confundido com cogumelos silvestres comestíveis apreciados no hemisfério norte, como os pertencentes aos gêneros *Tricholoma* e *Clitopilus*.

gem gástrica e carvão ativado, todos os sintomas gastrintestinais e a confusão mental resolveram-se. Ela relatou parestesia nas mãos, que foi resolvida nas 24 horas seguintes, e ela não apresentou mais problemas. Os cogumelos foram identificados como *Clitocybe dealbata.*

Intoxicação por anticolinérgicos

Uma mulher de 33 anos foi trazida à sala de emergência após ter sido encontrada em seu apartamento amarrada e amordaçada. Na admissão, ela estava alerta, mas lembrava-se apenas de seu nome. Os sinais vitais incluíam pressão arterial 155/105 mmHg, frequência cardíaca de 120 batimentos/min, respiratória de 16 ciclos/min e temperatura retal de 37,8°C. As pupilas estavam dilatadas (8 mm) e não reativas à luz. O exame do abdome indicou ausência de ruídos intestinais. Os músculos abdominais estavam relaxados, e o abdome distendido. O restante do exame físico não era digno de nota. O tratamento consistiu de dextrose a 50% via oral e 50 g de carvão ativado. Em torno de 12 horas depois, seu estado mental começou a melhorar. Foi, então, revelado que ela havia bebido vinho em um copo que, provavelmente, fora contaminado com um agente anticolinérgico por um hóspede, que a drogou e, então, roubou-a. Muitos dias depois, ela relatou não apresentar sequelas.

Fenilpropanolamina

Uma adolescente de 18 anos ingeriu oito comprimidos para dieta, cada um contendo 50 mg de fenilpropanolamina e 200 mg de cafeína. Ela foi vista aproximadamente 2 horas depois em uma sala de emergência. Sua pressão arterial era 145/95 mmHg, e a frequência cardíaca de 55 batimentos/min. A avaliação neurológica não demonstrou anormalidades. Ela recebeu sulfato de atropina e descontaminação gastrintestinal por lavagem. Em seguida, apresentou várias convulsões generalizadas. Estava letárgica, mas desperta e orientada. Em algumas horas, houve um declínio abrupto do estado mental da paciente. Ela perdeu todos os reflexos de tronco cerebral. O exame do líquido cerebrospinal revelou sangue. Ela teve rapidamente seu estado clínico deteriorado e foi a óbito. A autópsia revelou hematoma intracerebral à direita, com ruptura para o ventrículo lateral e espaço subaracnóideo. O cérebro estava difusamente edemaciado.

REFERÊNCIAS

Dart RC: Medical Toxicology, 3rd ed. Philadelphia: Williams & Wilkins, 2004.

Goldfrank NR, Flomenbaum NE, Lewin NA, et al (eds): Goldfrank's Toxicologic Emergencies, 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2008.

Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS (eds): Emergency Medicine: A Comprehensive Study Guide, 6th ed. New York: McGraw-Hill, 2004.

QUESTÕES

1. Qual é a meta primária ao obter a história de um paciente intoxicado?
   a. Determinar alergias a medicamentos.
   b. Determinar suscetibilidade a *overdose* por fármacos.
   c. Determinar a probabilidade de se tratar de uma tentativa de suicídio.
   d. Determinar a substância ingerida.
   e. Determinar o motivo por trás da intoxicação.

2. Quem, mais provavelmente, dará informações incorretas na obtenção da história de um paciente intoxicado?
   a. Paciente
   b. EMT (equipe de atendimento pré-hospitalar)
   c. Empregador
   d. Farmacêutico
   e. Familiares

3. Qual das seguintes listas de achados clínicos caracteriza uma síndrome tóxica anticolinérgica?
   a. Pressão arterial elevada, frequência cardíaca baixa, temperatura baixa.
   b. Pressão arterial baixa, frequência cardíaca aumentada, temperatura baixa.
   c. Pressão arterial elevada, frequência cardíaca aumentada, temperatura elevada.
   d. Pressão arterial baixa, frequência cardíaca baixa, temperatura baixa.
   e. Pressão arterial elevada, frequência cardíaca baixa, temperatura elevada.

4. Qual das seguintes listas de achados clínicos caracteriza uma síndrome tóxica simpaticomimética?
   a. Miose, ruídos intestinais diminuídos, nível de alerta diminuído.
   b. Frequência cardíaca diminuída, temperatura elevada, midríase.
   c. Estado mental hiperalerta, pressão arterial baixa, miose.
   d. Temperatura elevada, frequência cardíaca elevada, miose.
   e. Midríase, pressão arterial elevada, estado mental hiperalerta.

5. Qual dos fármacos a seguir NÃO é analisado laboratorialmente de forma rotineira pelos hospitais?
   a. Etanol
   b. Cocaína
   c. Aspirina
   d. Fenitoína
   e. Digoxina

6. Qual das opções NÃO está incluída no diagnóstico diferencial de um *gap* aniônico aumentado?
   a. Etanol
   b. Metanol
   c. Diabetes
   d. Etilenoglicol
   e. Diarreia

7. Um *gap* osmolar aumentado pode sugerir qual das seguintes opções?
   a. Intoxicação por metanol
   b. Vômitos crônicos
   c. Acidose lática
   d. Cetoacidose diabética
   e. Diarreia crônica

8. Qual das opções a seguir é, provavelmente, a MENOS capaz de prevenir absorção continuada de um agente tóxico?
   a. Indução de êmese
   b. Carvão ativado
   c. Lavagem gástrica
   d. Xarope de ipeca
   e. Agonista parassimpático

9. Qual das opções a seguir NÃO deveria ser usada para aumentar a eliminação de um agente tóxico?
   a. Carvão ativado oral
   b. Hemoperfusão
   c. Acidificação da urina
   d. Hemodiálise
   e. Plasmaferese

10. Qual das opções a seguir pode ser usada como antídoto para pacientes com intoxicação por cianeto?
    a. Xarope de ipeca
    b. Atropina
    c. Agentes quelantes
    d. Nitrito de sódio
    e. Quinina

CAPÍTULO

33

Toxicologia Ocupacional

Peter S. Thorne

INTRODUÇÃO

AMBIENTES DE TRABALHO, EXPOSIÇÕES E PADRÕES

Determinantes da dose

Limites de exposição ocupacional

DOENÇAS OCUPACIONAIS

Vias de exposição

Agentes associados a doenças ocupacionais

Doenças respiratórias ocupacionais

Outras doenças ocupacionais

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE AGENTES OCUPACIONAIS

Avaliação dos riscos ocupacionais

Estabelecimento da causalidade

Testes toxicológicos em animais para o estabelecimento dos níveis aceitáveis de exposição

Vigilância da saúde do trabalhador

Associação entre estudos com animais e estudos epidemiológicos

MONITORAMENTO DA EXPOSIÇÃO

Monitoramento ambiental para a avaliação da exposição

Monitoramento biológico para a avaliação da exposição

CONCLUSÃO

PONTOS-CHAVE

- Toxicologia ocupacional é a aplicação dos princípios e da metodologia da toxicologia aos agentes químicos e biológicos perigosos encontrados no ambiente de trabalho.
- Nos ambientes de trabalho, a exposição é frequentemente utilizada em substituição à dose.
- Os limites de exposição ocupacional não correspondem ao nível de exposição abaixo do qual é aceitável a probabilidade de danos à saúde dos trabalhadores expostos.
- As doenças originadas nos ambientes de trabalho envolvem a exposição principalmente por meio de inalação, ingestão ou absorção dérmica.

INTRODUÇÃO

Toxicologia ocupacional é a aplicação dos princípios e da metodologia da toxicologia aos agentes químicos e biológicos perigosos encontrados no ambiente de trabalho. O objetivo do toxicologista ocupacional é a prevenção de efeitos adversos à saúde de trabalhadores que resultem de seu ambiente de trabalho. Em razão de esse ambiente apresentar, com frequência, exposições a misturas complexas, o toxicologista ocupacional deve também ser capaz de reconhecer exposições combinadas, que são particularmente perigosas.

Muitas vezes, é difícil estabelecer a ligação causal entre a doença do trabalhador e sua ocupação no trabalho. Primeiro, as manifestações clínicas das doenças induzidas pelo local de trabalho são, em geral, indistinguíveis daquelas devidas a causas não ocupacionais. Segundo, pode existir um longo intervalo de

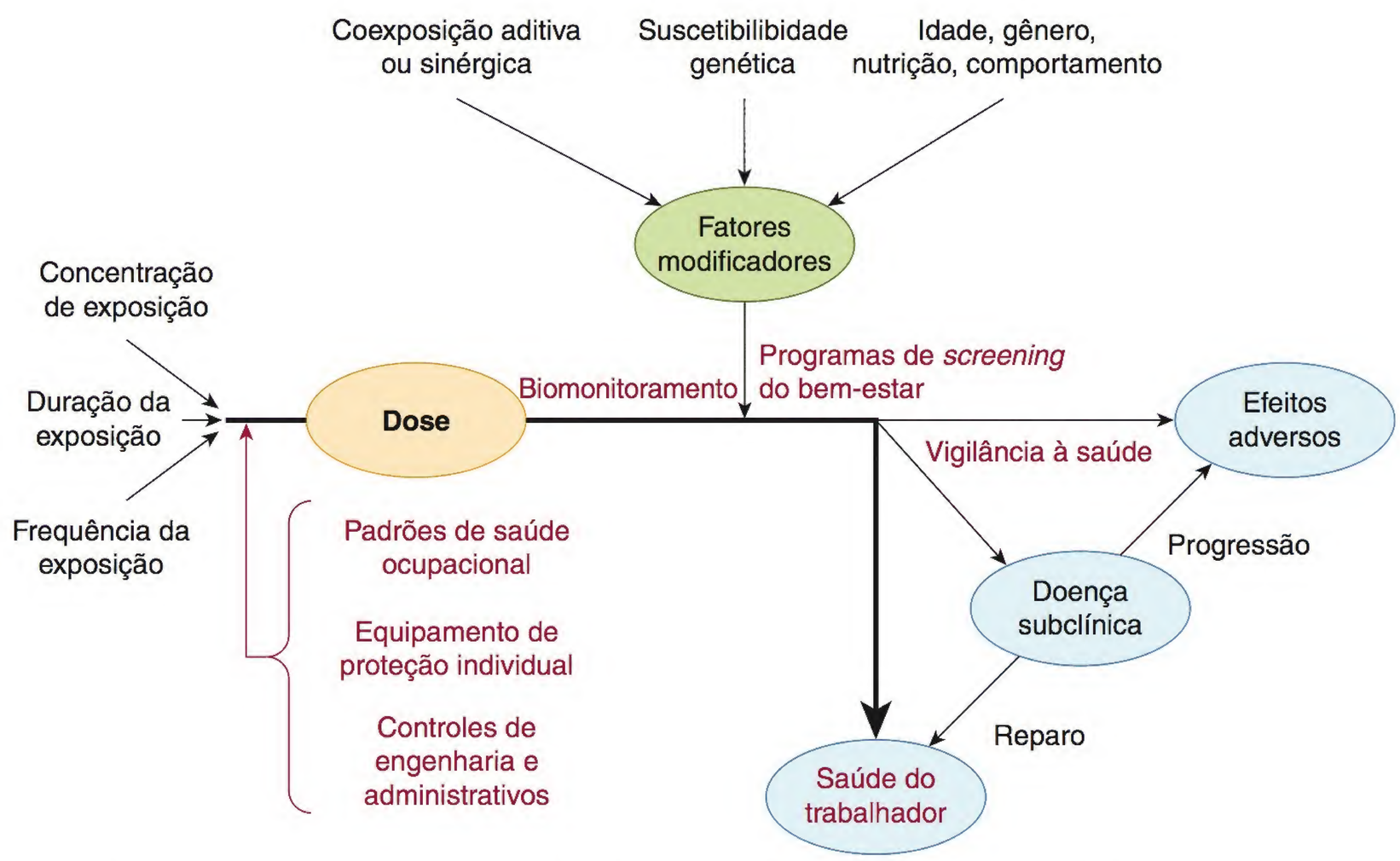


FIGURA 33.1 Caminhos da exposição à doença, mostrando fatores modificadores e oportunidades para intervenção.

tempo entre a exposição e a manifestação da doença. Terceiro, as doenças de origem ocupacional podem ser multifatoriais, envolvendo fatores pessoais ou outros fatores ambientais que contribuem para o processo da doença.

AMBIENTES DE TRABALHO, EXPOSIÇÕES E PADRÕES

Determinantes da dose

Dose é definida como a quantidade de um toxicante que alcança o tecido-alvo em um tempo determinado. Nos ambientes ocupacionais, a *exposição* é frequentemente usada como um substituto para a *dose*. A resposta a um agente tóxico é dependente tanto de fatores relacionados ao indivíduo exposto quanto à dose. A Figura 33.1 ilustra o caminho da exposição à doença subclínica ou ao efeito adverso à saúde e sugere a existência de importantes fatores modificadores, tais como exposição contemporânea, suscetibilidade genética, idade, gênero, estado nutricional e fatores ambientais. Esses fatores modificadores podem influenciar quer na manutenção da saúde de um trabalhador, quer no desenvolvimento de uma doença subclínica que pode ser reparada, ou progredir para a doença propriamente dita. Como ilustrado na Figura 33.1, a dose é função da concentração, da duração e da frequência da exposição. As características individuais e ambientais também podem afetar a dose. A Tabela 33.1 indica determinantes da dose para a exposição pelas vias respiratória e dérmica.

Limites de exposição ocupacional

Existem limites de exposição para agentes químicos, biológicos e físicos do ambiente de trabalho, visando à promoção da saúde e à segurança do trabalhador. Para agentes químicos e biológicos, os limites de exposição são expressos como níveis aceitáveis de concentração ambiental (*occupational exposure limits* [OELs]) ou como concentração de um toxicante, de seus metabólitos ou de um marcador específico de seus efeitos (*biological exposure indices* [BEIs]).

Os OELs são estabelecidos como padrões por agências regulatórias ou como guias por grupos de pesquisa ou organizações privadas. Nos Estados Unidos, a Occupational Safety and Health Administration (OSHA), órgão do Department of Labor, promulga padrões legalmente estabelecidos, conhecidos como *permissible exposure limits* (PELs). O National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH), órgão do Centers for Disease Control and Prevention (CDC), publica limites de exposição recomendados, frequentemente atualizados, e que são, em geral, mais restritivos de que os PELs.

TABELA 33.1 Determinantes da dose do toxicante

Exposição por inalação
• Concentração de aerodispersoides
• Distribuição do tamanho das partículas
• Velocidade da respiração
• Volume tidal
• Outros fatores ligados ao trabalhador
• Duração da exposição
• Propriedades químicas, físicas ou biológicas do toxicante
• Efetividade dos equipamentos de proteção individual
Exposição dérmica
• Concentração no ar, gotículas ou soluções
• Grau e duração da umidade da pele
• Integridade da pele
• Velocidade da absorção percutânea
• Região exposta da pele
• Superfície e área expostas
• Preexistência de doença de pele
• Temperatura no local de trabalho
• Veículo do toxicante
• Presença de outras substâncias químicas na pele

A American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) é uma organização privada que publica anualmente OELs para agentes químicos e físicos, os denominados *threshold limit values* (TLVs) e BEIs. Esses valores são desenvolvidos como guias, não sendo padrões impostos legalmente.

Os OELs não correspondem aos níveis de exposição abaixo dos quais a probabilidade de ocorrer alterações na saúde dos trabalhadores expostos é aceitável. Para determinar se os riscos advindos da exposição ocupacional são aceitáveis, é necessário caracterizar o perigo, identificar as potenciais doenças ou efeitos nocivos e estabelecer a relação entre a intensidade da exposição ou a dose e os efeitos adversos à saúde.

DOENÇAS OCUPACIONAIS

Vias de exposição

As doenças originadas dos ambientes de trabalho envolvem exposição primariamente por meio da inalação, da ingestão ou da absorção dérmica. As exposições que conduzem às infecções ocupacionais podem aparecer pela inalação ou ingestão de microrganismos, a partir de agulhas em trabalhadores da área da saúde ou de picadas de insetos em trabalhadores de áreas externas. Além disso, as intoxicações por plantas tóxicas ou por animais venenosos podem ocorrer por inoculação dérmica (p. ex., em trabalhadores de zoológicos, de horticultura, ou em trabalhadores que manipulam peles com fins comerciais).

Agentes associados a doenças ocupacionais

A Tabela 33.2 mostra algumas das principais doenças ocupacionais e exemplos de toxicantes que as causam. A Tabela 33.3 apresenta carcinógenos humanos conhecidos (grupo 1), aos quais ocorre extensiva exposição ocupacional.

Doenças respiratórias ocupacionais

Doenças pulmonares ocupacionais (como a pneumoconiose pelo carvão, asbestose e asma ocupacional) são grandemente responsáveis pela criação de regulamentos relacionados à saúde do trabalhador. A taxa bruta de mortes nos Estados Unidos e as mortes anuais mostradas na Tabela 33.4 ilustram que as taxas de morte são relativamente baixas, mas, na verdade, as fatalidades são justamente a ponta do *iceberg*. A pneumonite por hipersensibilidade raramente é fatal, porém, é, muitas vezes, debilitante. Além disso, existem 20 mil casos hospitalares anuais relacionados à asbestose e 188 mil casos de pessoas que trabalharam com carvão e que recebem benefícios federais pelo "pulmão negro".

Os danos por gases tóxicos são, com frequência, caracterizados pela perda de fluido e de proteínas osmoticamente ativas do tecido vascular para o interior do interstício e das vias aéreas. Os vapores de amônia anidra combinam-se com a água dos tecidos dos olhos, dos sinus e das vias aéreas superiores formando o hidróxido de amônio, que rapidamente produz necrose liquefativa. Gases químicos com baixa hidrossolubilidade, como o dióxido de nitrogênio, agem sobretudo nas vias respiratórias inferiores e nos alvéolos e demandam longo tempo para induzir danos pulmonares.

A asma de origem ocupacional ocorre quando as vias aéreas se restringem em resposta a alguns estímulos presentes no ambiente de trabalho. Esses estímulos incluem polímeros de plásticos e de borracha, pigmentos reativos e anidridos ácidos, biocidas e fungicidas, metais, látex e algumas enzimas. A exposição a plantas, animais ou fungos também pode induzir asma.

Outras doenças ocupacionais

Os toxicantes ocupacionais podem induzir doenças em uma variedade de sítios distantes dos pulmões ou da pele, como o aparecimento de tumores no fígado, na bexiga, no trato gastrintestinal ou no sistema hematopoiético, e são atribuídos a agentes de diversas classes químicas. Podem ocorrer danos no sistema nervoso central, periférico, ou em ambos. Estes podem ser agudos, como na exposição a certos compostos organofosforados, ou crônicos, como em intoxicações por organomercuriais ou na neuropatia induzida pela acrilamida. Danos no sistema imune podem ocorrer pelo efeito imunossupressor de agentes químicos ou pela hipersensibilidade, levando a alergias respiratória ou dérmica ou a reações de hipersensibilidade sistêmica. A síndrome autoimune tem sido associada a exposições ocupacionais à sílica cristalina ou ao cloreto de vinila.

Doenças ocupacionais do sistema cardiovascular incluem aterosclerose, arritmias, diminuição no suprimento de sangue das artérias coronárias, hipotensão sistêmica e hipertrofia do ventrículo direito, em geral devido a hipertensão coronariana. Doenças hepáticas incluem o fígado gorduroso induzido pelo tetracloreto de carbono. Doenças do sistema reprodutor de origem ocupacional podem ser específicas com relação ao gênero e ao órgão ou afetar ambos os gêneros. A exposição a agentes infecciosos pode causar doenças em trabalhadores que desempenham certas ocupações, como veterinários, trabalhadores da área de saúde, pesquisadores biomédicos e fazendeiros.

Ambientes internos, industriais ou não, podem apresentar riscos ocupacionais devido à presença de agentes químicos ou biológicos. Problemas como a ventilação e o uso de materiais de construção sintéticos têm levado ao aumento de queixas associadas com a ocupação do trabalhador na construção civil. Substâncias químicas voláteis e semivoláteis são liberadas de materiais, na manufatura, de materiais de construção, de revestimento de pisos, da mobília, de produtos de limpeza, de biocidas e de microrganismos. Em alguns casos, o espaço ocupado por um edifício pode estar seco e limpo, porém sítios localizados, como armários úmidos ou porões, podem facilitar o crescimento e o desenvovimento de bolores. Viroses por aerodispersoides, bactérias e fungos são responsáveis por uma variedade de moléstias relacionadas à construção civil.

AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DE AGENTES OCUPACIONAIS

Avaliação dos riscos ocupacionais

Para recomendar um nível de exposição aceitável de um agente químico industrial, deve-se ter o cuidado de definir os riscos associados aos efeitos adversos na população mais suscetível a ele exposta. A proporção de indivíduos expostos que pode, ainda, desenvolver um efeito adverso ao nível de exposição aceitável proposto deve ser determinada.

TABELA 33.2 Exemplos de doenças ocupacionais e os toxicantes que as causam

Órgão/sistema ou grupo de doença	Doença	Agente causal
Pulmões e vias aéreas	Edema pulmonar agudo, bronquiolite obliterante	Óxidos de nitrogênio, fosgênio
	Rinite alérgica	Polens, esporos de fungos
	Asfixia	Monóxido de carbono, cianeto de hidrogênio, gases inertes (por queda do O_2)
	Asma	Diisocianato de tolueno, α-amilase, proteínas de urina animal
	Síndrome semelhante à asma	Celeiro de suínos, poeira de algodão, bioaerossóis
	Bronquite, pneumonite	Arsênio, cloro
	Bronquite crônica	Poeiras de algodão e de grãos, fumos de soldas
	Enfizema	Poeiras de carvão, fumaça de cigarro
	Doença fibrótica pulmonar	Sílica, asbestos
	Pneumonite por hipersensibilidade	Bactérias termofílicas, proteínas de aves, piretro, *Penicillium, Aspergillus*
	Febre do fumo de metais	Zinco, cobre, magnésio
	Irritação da membrana mucosa	Ácido clorídrico, celeiros de suínos
	Síndrome tóxica de poeiras orgânicas	Silagem mofada, endotoxina
	Inflamação do trato respiratório superior	Endotoxina, peptideoglicana, glucanas, viroses
Câncer	Leucemia aguda mielogênica	Benzeno, óxido de etileno
	Câncer da bexiga	Benzidina, 2-naftilamina, 4-difenilamina
	Cânceres gastrintestinais	Asbestos
	Hemangiosarcoma hepático	Cloreto de vinila
	Carcinoma hepatocelular	Aflatoxina, vírus da hepatite B
	Mesotelioma, carcinoma pulmonar	Asbestos, arsênio, éter bis (clorometila), radônio
	Câncer de pele	Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, irradiação ultravioleta
Pele	Dermatite alérgica de contato	Látex de borracha natural, isotiazolinas, hera tóxica, níquel
	Queimaduras químicas	Hidróxido de sódio, ácido fluorídrico
	Cloracne	TCDD,* bifenilas policloradas
	Dermatite por irritação	Sulfato de sódio dodecila
Sistema nervoso	Inibição de colinesterase	Inseticidas organofosforados
	Neuropatia	Metilmercúrio
	Parkinsonismo	Monóxido de carbono, dissulfeto de carbono
	Neuropatia periférica	*N*-Hexano, tricloretileno, acrilamida
Sistema imune	Doença autoimune	Cloreto de vinila, sílica
	Hipersensibilidade	Ver entradas para rinite alérgica, asma, hipersensibilidade, pneumonite, dermatite de contato alérgica
	Imunossupressão	TCDD, chumbo, mercúrio, pesticidas
Sistema renal	Falha renal indireta	Arsina, fosfina, trinitrofenol
	Nefropatia	Paraquat, 1,4-diclorobenzeno, cloreto mercúrico
Doença cardiovascular	Arritmias	Acetona, tolueno, cloreto de metila, tricloretileno
	Aterosclerose	Dinitrotolueno, monóxido de carbono
	Doença arterial coronariana	Dissulfeto de carbono
	Cor pulmonale	Berílio
	Hipotensão sistêmica	Nitroglicerina, dinitrato de etilenoglicol
Doença hepática	Fígado gorduroso (esteatose)	Tetracloreto de carbono, tolueno
	Cirrose	Arsênio, tricloretileno
	Morte hepatocelular	Dimetilformamida, TCDD
Sistema reprodutivo	Homens	Clordecona (kepone), dibromocloropropano, hexano
	Mulheres	Anilina, estireno
	Ambos os gêneros	Dissulfeto de carbono, chumbo, cloreto de vinila
Doenças infecciosas	Encefalite por arbovírus	Alfavírus, buniavírus, flavivírus
	Aspergilose	*Aspergillus niger, A. Fumigatus, A. flavus*
	Criptoporidiose	*Cryptosporidium parvum*
	Hepatite B	Vírus da hepatite B
	Histoplasmose	*Histoplasma capsulatum*
	Legionelose	*Legionella pneumophila*
	Doença de Lyme	*Borrelia burgdorferi*
	Psitacose	*Chlamydia psittaci*
	Tuberculose	*Mycobacterium tuberculosis hominis*

*TCDD = 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-*p*-dioxina.

TABELA 33.3 Agentes de exposição ocupacional classificados pela IARC* como agentes carcinógenos comprovados

Agente	Indústrias e ocupações nas quais alguns trabalhadores podem estar expostos
Material particulado	
Asbestos	Mineiros, trabalhadores com material antirruído, de construção, de placas metálicas, de estaleiros, de canalizações
Sílica cristalina	Indústria de pedras e cerâmica, fundições, construção, manufaturas abrasivas
Talco contendo fibras asbestiformes	Indústria de cerâmica
Erionita	Tratamento de esgoto, manufatura de material de construção
Poeira de madeira	Madeira e indústrias de produtos de madeira, de polpa e do papel, comércio, trabalho com madeira comercial
Metais	
Arsênio e compostos de arsênio	Mineradores, fundição de metais não ferrosos, fabricação e aplicação de praguicidas arsenicais
Berílio	Trabalhadores de metalurgia especializada, indústria da aviação, de eletrônicos, nuclear
Cádmio e compostos de cádmio	Fundição de cádmio, fabricação de baterias, de pigmentos e tintas, eletrodeposição
Compostos de crômio hexavalente, compostos de níquel**	Fábricas de produção de cromatos, de tintas e pigmentos, soldadores, curtidores, fundição de níquel, soldas
Compostos orgânicos	
Benzeno	Refinarias, indústrias de calçados, indústrias farmacêutica, química e da borracha, indústria de impressão
Carvão de alcatrão e piche	Produção do coque, gasificação do carvão, refinarias, fundições, pavimentação de estradas, aplicação de alcatrão quente em tetos
Óleos minerais, não tratados ou moderamente tratados	Trabalho com materiais de cortar e afiar metais, produção de cilindros de aço, indústria de impressão
Óleos de argila e lubrificantes derivados de argila	Mineração e processamento, indústria têxtil do algodão
Fuligem	Limpadores de chaminé, empreiteiros de aquecedores e ventilação, bombeiros, metalúrgicos
Cloreto de vinila	Indústria de plásticos, fabricação de produtos de cloreto de polivinila e de copolímeros de cloreto de vinila
Éter bis (clorometila) e éter clorometila (grau técnico)	Indústria química, reagente de laboratório, fabricação de plásticos
4-Aminobifenila	Indústria química, fabricação de pigmentos e corantes
Benzidina	Indústria química, fabricação de pigmentos e corantes
2-Naftilamina	Indústria química, fabricação de pigmentos e corantes
Óxido de etileno	Indústria química, fumigação seca de vegetais, esterilização em hospitais
2,3,7,8-Dibenzo-*p*-dioxina (TCDD)	Processamento de lixos perigosos, produção e uso de herbicidas clorofenoxi, indústria da polpa e do papel
Aflatoxina	Indústria de alimentos para animais, manipulação e processamento de grãos
Outros agentes com exposição ocupacional	
Fumaça de tabaco ambiental	Restaurantes, bares, indústria de entretenimento, outros trabalhadores expostos à fumaça
Gás mostarda	Produção do gás, soldados, alguns laboratórios de pesquisa
Neblinas de ácidos inorgânicos fortes contendo ácido sulfúrico	Indústrias do aço, petroquímica, fertilizantes, decapagem
Agentes físicos	
Radiação ionizante***	Pessoal que trabalha em radiologia e medicina nuclear, com lixo perigoso, trabalhadores de indústria nuclear
Radiação solar	Fazendeiros, jardineiros, paisagistas, salva-vidas, trabalhadores da construção

*IARC = International Agency for Research on Cancer.
**Certas combinações de óxidos de níquel e sulfetos.
***Inclue raios X, raios Y, nêutrons e gás radônio.

TABELA 33.4 Número de mortes e taxa bruta de mortes atribuída a algumas doenças pulmonares ocupacionais nos Estados Unidos

Doença	Número de mortes	Taxa de morte por milhões de pessoas em idade produtiva
Asbestose	1.265	6
Pneumoconiose dos mineiros de carvão	1.003	4,7
Silicose	187	0,9
Bissinose	7	0,03
Outras pneumoconioses*	318	1,5
Mesotelioma maligno	2.485	11,7
Pneumonite por hipersensibilidade	57	0,3

*Incluídas as aluminoses, beriloses, estanioses, sideroses e fibroses provocadas por bauxita, fibras de grafite, *wollastonite* ($CaSiO_3$), cádmio, cimento Portland (cimento hidráulico), esmeril, caulim (argila comum), antimônio e mica (filossilicatos). *Fonte:* NIOSH Worker Health Chartbook 2004, U.S. Bureau of Labor Statistics.

	Avaliação da exposição a agentes específicos	Consideração ou controle de fatores de confusão	Evidências da existência de relação dose-resposta	Resultados consistentes de diferentes estudos	Dados clínicos objetivos	*Endpoints* relacionados à patologia em humanos	Indivíduos ou modelos apropriados
Estudos *in vitro*							
Estudos em animais							
Testes estimulados em humanos							
Estudos de caso							
Estudos epidemiológicos							

A qualidade dos dados obtidos em cada um dos estudos listados na primeira coluna da matriz deve ser ponderada em função da existência dos critérios mencionados no topo de cada coluna, como segue:

0 Nenhuma evidência ou condição não preenchida
1 Dados ambíguos ou condição parcialmente preenchida
2 Algumas evidências ou condição preenchida em sua maioria
3 Claras evidências ou condição preenchida de forma convincente

FIGURA 33.2 Matriz para avaliação da intensidade de associação entre um toxicante e uma doença ocupacional.

Estabelecimento da causalidade Em ambientes ocupacionais complexos, pode ser difícil estabelecer a causalidade entre um agente tóxico e uma doença. Foi desenvolvida uma matriz para avaliar a força da evidência de uma associação causal entre um toxicante e uma doença ocupacional (Fig. 33.2). Evidências provenientes de estudos *in vitro* bem conduzidos, estudos em animais, testes estimulados em humanos (exposição clínica intencional de humanos), relatos de casos e investigações epidemiológicas são avaliadas, sendo essa avaliação guiada por sete critérios. Se um agente químico tiver sido estudado em animais, humanos e *in vitro* e se esses estudos tiverem sido adequadamente controlados utilizando-se modelos apropriados e *endpoints* relevantes, a produção de evidências claras e convincentes de uma relação exposição-resposta pode ser uma forte relação causal entre um agente químico e uma doença.

Testes toxicológicos em animais para o estabelecimento dos níveis aceitáveis de exposição

Estudos em animais fornecem dados importantes que podem ser utilizados na estimativa do nível de exposição no qual o risco à saúde é aceitável. A duração dos testes realizados para a determinação do nível de exposição aceitável é função, principalmente, do tipo de ação tóxica que se suspeita ter a substância química. Para as substâncias que apresentam ação sistêmica, os testes de toxicidade aguda e subaguda são insuficientes para o estabelecimento dos OELs. Esses testes são realizados, em geral, para verificar se as substâncias possuem propriedades imunotóxicas e características acumulativas, sendo úteis, ainda, na seleção das doses a serem utilizadas em estudos de exposição a longo prazo. Estudos de teratogenicidade, assim como aqueles delineados para avaliar efeitos sobre a reprodução, devem também ser considerados na determinação dos níveis aceitáveis de uma exposição.

As informações provenientes de estudos realizados utilizando-se as mesmas vias de exposição dos trabalhadores são claramente mais relevantes. A escolha do tipo de estudo a ser realizado e da via de exposição a ser empregada deve ser cuidadosa e cientificamente avaliada para cada toxicante. Os sítios-alvo do toxicante e de seu mecanismo de ação, o metabolismo, a natureza dos efeitos adversos e a maneira como os trabalhadores se expõem a ele são considerações importantes que devem ser incluídas nos estudos.

Vigilância da saúde do trabalhador

O principal objetivo da toxicologia ocupacional é possibilitar tanto a triagem periódica da saúde e do bem-estar em geral quanto o monitoramento da saúde ocupacional configurado para reconhecer riscos no ambiente de trabalho. O monitoramento da exposição ocupacional a toxicantes pode ser importante na detecção de exposições excessivas antes que possam ocorrer distúrbios biológicos significativos e danos à saúde dos trabalhadores expostos. Quando um novo agente químico está sendo usado em grande escala, devem ser instituídos uma cuidadosa vigilância clínica dos trabalhadores e o monitoramento do ambiente de trabalho. É essencial avaliar a validade do OEL derivado de estudos realizados em animais experimentais na vigilância do meio ocupacional.

Estudos epidemiológicos delineados para avaliar uma relação exposição-resposta terão maior validade se a dose-alvo e as alterações biológicas críticas tiverem sido monitoradas em estudos de exposição-resposta. É necessário, também, que seja conhecida a disponibilidade da substância no organismo, assim como seu mecanismo de ação. Considerando que os biomarcadores de efeitos iniciais são sutis e que existem variações individuais na resposta à ação tóxica dos agentes químicos, é necessário, via de regra, que resultados provenientes de estu-

dos realizados em um grupo de trabalhadores expostos sejam comparados, estatisticamente, com resultados advindos de estudo desenvolvido em um grupo de trabalhadores não expostos ao agente de interesse. Se a exposição induz o aparecimento de efeitos adversos, espera-se que esses estudos consigam estabelecer uma relação entre exposição integrada (intensidade x tempo) e frequência de resultados anormais e, consequentemente, a redefinição do OEL.

Nos casos em que um programa de vigilância não tiver sido implantado antes da introdução do novo agente químico no meio ocupacional, torna-se mais difícil estabelecer a eficácia do limite de exposição. Nesses casos, a avaliação dependerá de estudos de coortes retrospectivos ou estudos de casos-controle ou, ainda, de estudos transversais em trabalhadores que já tenham sido submetidos à exposição.

Relatos de casos isolados de exposições excessivas resultantes de incidentes específicos, tais como rompimentos de contenções, derramamentos químicos, rupturas de vasos e tubos, podem fornecer informações úteis. Tais informações podem indicar se a sintomatologia humana é semelhante àquela encontrada em animais e sugerir testes biológicos ou funcionais que possam ser úteis para o monitoramento de rotina dos trabalhadores expostos.

Associação entre estudos com animais e estudos epidemiológicos

No campo da toxicologia ocupacional, a estreita colaboração entre os estudos realizados em animais e aqueles desenvolvidos com trabalhadores é essencial para que se possam examinar os riscos associados a uma exposição excessiva a agentes químicos e outros toxicantes. Vários carcinógenos ocupacionais foram identificados claramente por meio da combinação de abordagens epidemiológicas e experimentais. A carcinogenicidade do cloreto de vinila, por exemplo, foi primeiramente demonstrada em ratos, e, poucos anos depois, estudos epidemiológicos confirmaram o mesmo risco carcinogênico para humanos. Essa observação estimulou várias investigações sobre o metabolismo do cloreto de vinila em animais e sua mutagenicidade em estudos *in vitro*, levando ao melhor entendimento do seu mecanismo carcinogênico.

Estudos realizados em animais, referentes à biotransformação de toxicantes ocupacionais, contribuem para a caracterização de produtos intermediários reativos e podem sugerir riscos ainda não suspeitados ou indicar novos métodos de monitoramento biológico. De forma recíproca, observações clínicas podem estimular estudos do metabolismo ou do mecanismo de toxicidade de um agente tóxico em animais, revelando, assim, a importância para a saúde de um distúrbio biológico.

O arsênio é um dos raros compostos para os quais existem poucos dados obtidos em animais que apresentam valor preditivo para o conhecimento de seus efeitos sobre a saúde humana. Os compostos inorgânicos de arsênio são, comprovadamente, capazes de desenvolver câncer em vários órgãos humanos, mas não são carcinogênicos para animais. Esses dados demonstram que o toxicologista ocupacional não pode confiar apenas nos estudos epidemiológicos ou naqueles desenvolvidos em animais. É necessária uma abordagem associada para identificar, elucidar e priorizar os riscos e, também, para desenvolver intervenções e técnicas para a vigilância da saúde dos trabalhadores.

MONITORAMENTO DA EXPOSIÇÃO

Monitoramento ambiental para a avaliação da exposição

Um elemento crítico no estabelecimento dos OELs é a exatidão e a uniformidade da avaliação da exposição. A metodologia para essa avaliação deve ser formatada especificamente para o agente em estudo e para o meio no qual ele aparece. Amostras individuais colhidas na zona respiratória dos trabalhadores são, geralmente, aquelas utilizadas para avaliar exposições pela via pulmonar. A amostragem aleatória e repetida costuma ser a melhor abordagem para desenvolver medidas de exposição sem erros de desvio. Estudos recentes têm demonstrado que as abordagens com base em estudos de grupos, ou seja, medindo-se a exposição de um grupo em vez de em cada trabalhador, de forma individual, são mais eficientes na obtenção de um nível desejado de exatidão.

Embora a dose não possa ser medida diretamente por meio do monitoramento da exposição, existem distintas vantagens deste sobre o monitoramento biológico, que não consegue fornecer dados específicos relacionados à exposição por diferentes vias de introdução. As técnicas utilizadas no monitoramento ambiental são, em geral, mais econômicas e menos invasivas do que as técnicas envolvidas na colheita e na análise de amostras biológicas como sangue e urina. O monitoramento ambiental pode estabelecer associações espaciais, temporais e com as práticas de trabalho, podendo sugerir melhores medidas de intervenção e de controle de engenharia.

Monitoramento biológico para avaliação da exposição

O biomonitoramento consiste na medida de toxicantes, de seus metabólitos ou de sinais moleculares dos efeitos em amostras provenientes de homens e animais, como urina, sangue, fezes, ar expirado, cabelo, unhas, líquido de lavagem bronquial, leite materno e tecido adiposo. Essas medidas podem servir como biomarcadores de exposição, efeito ou suscetibilidade. Tecnologias emergentes irão permitir a medida e o monitoramento de agentes químicos no organismo e a transmissão dos dados a partir de biossensores internos. Os dados do biomonitoramento permitem avaliar a exposição com base na dose interna, ou seja, na quantidade do agente químico presente em um ou em vários compartimentos corpóreos ou no organismo como um todo. O biomonitoramento considera, portanto, a exposição ao agente químico de interesse por todas as vias de introdução.

A maior vantagem em se utilizar o biomonitoramento reside no fato de o parâmentro biológico da exposição estar mais intimamente relacionado ao efeito adverso à saúde do que as medidas ambientais. Ele pode oferecer melhor estimativa do risco do que a determinada pelo monitoramento ambiental. O monitoramento biológico considera a penetração do toxicante por todas as vias de exposição.

Vários fatores podem influenciar a entrada do toxicante no organismo. Os hábitos de higiene pessoal variam de acordo com cada pessoa, e existe algum grau de variação individual na taxa de absorção do agente químico pela via pulmonar, pela pele ou pelo trato gastrintestinal. Devido à capacidade de englobar e avaliar

a exposição total (independentemente da via de introdução), o monitoramento biológico pode ser utilizado, também, para testar a eficiência dos equipamentos de proteção individual, tais como respiradores, luvas ou cremes protetores. Outra consideração em relação ao monitoramento biológico refere-se ao fato de exposições não ocupacionais (lazer, exposição residencial, hábitos alimentares, cigarro, empregos secundários) poderem ser, também, expressas nas amostras biológicas.

A relação entre o monitoramento ambiental e biológico pode ser modificada por fatores que alterem a disponibilidade de um toxicante ocupacional *in vivo*. Interações metabólicas podem ocorrer quando trabalhadores são expostos, simultaneamente, a agentes tóxicos que possuem as mesmas vias de biotransformação ou que modificam a atividade das enzimas de biotransformação. Além disso, interferências metabólicas podem ocorrer entre toxicantes ocupacionais, álcool, tabaco, aditivos alimentares, medicamentos, fitoterápicos ou drogas recreativas.

Em resumo, o monitoramento ambiental e o biológico devem ser considerados complementares em um programa de segurança e saúde ocupacional.

CONCLUSÃO

O ambiente de trabalho sempre apresentará o risco de uma exposição excessiva dos trabalhadores a vários toxicantes. O reconhecimento desses riscos não deve esperar até que estudos epidemiológicos tenham definido os níveis perigosos de exposição. A combinação de uma abordagem experimental, clínica e epidemiológica é a medida mais efetiva na avaliação do risco potencial, na divulgação de padrões de saúde ocupacional com bases científicas e na implementação de medidas de controle no local de trabalho objetivando assegurar a adesão aos padrões estabelecidos.

REFERÊNCIAS

ACGIH: *2008 TLVs and BEIs: Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices.* Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists, 2008.

Aw TC, Gardiner K, Harrington JM, et aI (eds): *Occupational Health.* Malden, MA: Blackwell, 2006.

Gantt P, Schnepp R: *Hazardous MateriaIs: ReguIations, Response and Site Operations,* 2nd ed. Clifton Park, NY: Delmar Cengage Learning, 2009.

QUESTÕES

1. Qual dos seguintes fatores NÃO é um fator modificador que pode influenciar a probabilidade de ocorrência de doença?
   a. Idade
   b. Dose
   c. Estado nutricional
   d. Gênero
   e. Suscetibilidade genética

2. Qual dos seguintes fatores é o menos provável de aumentar a inalação ocupacional de um agente químico?
   a. Aumento da concentração de aerodispersoides
   b. Aumento da taxa respiratória
   c. Aumento do volume tidal
   d. Aumento no tamanho das partículas
   e. Aumento na duração da exposição

3. Que fator poderia aumentar a probabilidade de uma dosagem tóxica durante uma exposição dérmica?
   a. Ausência prévia de doença cutânea
   b. Exposição tóxica em superfícies cutâneas espessas
   c. Aumento da taxa de absorção percutânea
   d. Pequena área superficial de exposição
   e. Elevada integridade da junção intercelular epidérmica

4. A exposição prolongada ao arsênio pode causar:
   a. Infertilidade
   b. Cirrose
   c. *Cor pulmonale*
   d. Câncer de pele
   e. Nefropatia

5. Qual das seguintes doenças pulmonares apresenta a maior taxa de morte ocupacional?
   a. Asbestose
   b. Pneumoconiose dos trabalhadores de carvão
   c. Bissinose
   d. Pneumonite por hipersensibilidade
   e. Silicose

6. A doença de Lyme é causada por qual dos seguintes agentes?
   a. *B. burgdorferi*
   b. *H. capsulatum*
   c. *M. tuberculosis*
   d. *L. pneumophila*
   e. *C. psittaci*

7. É improvável que a exposição ao asbestos cause:
   a. Câncer pulmonar
   b. Câncer do trato gastrintestinal
   c. Enfisema
   d. Fibrose pulmonar
   e. Mesotelioma

8. A exposição a qual dos seguintes compostos pode causar doença autoimune?
   a. Mercúrio
   b. Dióxido de nitrogênio
   c. Cloreto de vinila
   d. Chumbo
   e. Flavivírus

9. Qual dos seguintes compostos pode estar ligado ao parkinsonismo?
   a. Dióxido de nitrogênio
   b. Zinco
   c. Cobre
   d. Magnésio
   e. Monóxido de carbono

10. Qual dos seguintes agentes infecciosos pode causar carcinoma hepatocelular?
   a. Flavivírus
   b. Buniavírus
   c. Alfavírus
   d. Vírus da hepatite C
   e. Vírus da hepatite B

Respostas às Questões dos Capítulos

Capítulo 1

1. b.
2. a.
3. a.
4. d.
5. b.

Capítulo 2

1. b.
2. c.
3. b.
4. d.
5. e.
6. e.
7. b.
8. c.
9. d.
10. a.

Capítulo 3

1. b.
2. e.
3. a.
4. c.
5. d.
6. e.
7. b.
8. a.
9. e.
10. c.
11. b.
12. b.

Capítulo 4

1. d.
2. c.
3. c.
4. c.
5. e.
6. c.
7. c.
8. d.
9. c.
10. b.

Capítulo 5

1. a.
2. e.
3. d.
4. b.
5. e.
6. c.
7. c.
8. d.
9. b.
10. d.

Capítulo 6

1. b.
2. c.
3. c.
4. e.
5. b.
6. d.
7. d.
8. a.
9. e.
10. d.

Capítulo 7

1. c.
2. a.
3. d.
4. d.
5. e.
6. c.
7. b.
8. d.
9. b.
10. c.

Capítulo 8

1. d.
2. e.
3. e.
4. b.
5. c.
6. a.
7. d.
8. e.
9. c.
10. b.

Capítulo 9

1. c.
2. d.
3. b.
4. c.
5. e.
6. b.
7. e.
8. c.
9. c.
10. d.

Capítulo 10

1. d.
2. c.
3. a.
4. c.
5. d.
6. b.
7. e.
8. c.
9. e.
10. e.

Capítulo 11

1. c.
2. a.
3. d.
4. d.
5. a.
6. c.
7. d.
8. c.
9. e.
10. b.

Capítulo 12

1. d.
2. b.
3. c.
4. b.
5. c.
6. d.
7. e.
8. b.
9. d.
10. a.

Capítulo 13

1. d.
2. d.
3. b.
4. e.
5. a.
6. c.
7. b.
8. d.
9. e.
10. e.

Capítulo 14

1. e.
2. b.
3. c.
4. d.
5. d.
6. a.
7. c.
8. e.
9. d.
10. c.

Capítulo 15

1. d.
2. b.
3. d.
4. e.
5. d.
6. b.
7. d.
8. a.
9. c.
10. c.

Capítulo 16

1. e.
2. d.
3. c.
4. b.
5. d.
6. b.
7. a.
8. d.
9. c.
10. d.

Capítulo 17

1. e.
2. c.
3. b.
4. a.
5. d.
6. a.
7. e.
8. d.
9. e.
10. d.

Capítulo 18

1. b.
2. b.
3. d.
4. d.
5. e.
6. c.
7. c.
8. a.
9. d.
10. d.

Capítulo 19

1. b.
2. e.
3. a.
4. d.
5. b.
6. c.
7. d.
8. c.
9. c.
10. a.

Capítulo 20

1. c.
2. d.
3. b.
4. a.
5. e.
6. b.
7. e.
8. d.
9. b.
10. c.

Capítulo 21

1. c.
2. d
3. b.
4. c.
5. e.
6. b.
7. c.
8. d.
9. a.
10. b.

Capítulo 22

1. a.
2. c.
3. b.
4. a.
5. e.
6. d.
7. b.
8. c.
9. d.
10. d.

Capítulo 23

1. c.
2. d.
3. d.
4. b.
5. a.
6. e.
7. c.
8. d.
9. a.
10. c.

Capítulo 24

1. d.
2. c.
3. c.
4. b.
5. d.
6. b.
7. d.
8. b.
9. a.
10. d.

Capítulo 25

1. b.
2. c.
3. a.
4. e.
5. d.
6. c.
7. c.
8. d.
9. a.
10. e.

Capítulo 26

1. a.
2. d.
3. d.
4. e.
5. c.
6. c.
7. a.
8. e.
9. a.
10. b.

Capítulo 27

1. b.
2. d.
3. a.
4. c.
5. c.
6. e.
7. b.
8. c.
9. a.
10. e.

Capítulo 28

1. b.
2. d.
3. e.
4. c.
5. e.
6. c.
7. d.
8. a.
9. b.
10. d.

Capítulo 29

1. b.
2. c.
3. a.
4. e.
5. c.
6. c.
7. e.
8. b.
9. e.
10. d.

Capítulo 30

1. d.
2. a.
3. b.
4. e.
5. c.
6. d.
7. d.
8. a.
9. e.
10. d.

Capítulo 31

1. d.
2. b.
3. a.
4. c.
5. e.
6. b.
7. c.
8. e.
9. d.
10. d.

Capítulo 32

1. d.
2. a.
3. c.
4. e.
5. b.
6. e.
7. a.
8. e.
9. c.
10. d.

Capítulo 33

1. b.
2. d.
3. c.
4. b.
5. b.
6. a.
7. c.
8. c.
9. e.
10. e.

Índice

Observação: as páginas em **negrito** se referem à discussão principal; as páginas seguidas por *f* indicam figuras e as seguidas por *t* indicam tabelas.

A

AAE (aminoácidos excitatórios), 376
AAMP (ácido α-amino-3-hidroxi-5-metiloxazol-4-propiônico), 231
Aberrações cromossômicas estruturais, 127-128
Absorção, **60-63**
  através da pele, 63
  definição, 22, 60
  fatores que influenciam a absorção, 22
  pelos pulmões, 61-63. 62*f*
  por vias especiais, 63
  vs. eliminação pré-sistêmica, 22-23
Absorção dermal, 321
Absorção percutânea, 63
Abuso de crianças, 413
Abuso de fármacos, distribuição em amostras de urina, 413*t*
Acetaminofeno. V*er* paracetamol 186, 187
Acetilcolinesterase (ACHE), 314
Ácido α-amino-3-hidroxi-5-metilisoxazol-4-propiônico (AMPA), 231
Ácido δ-aminolevulínico desidratase (AALD), 330-331
Acne
  cloracne, 277-278
  doença pleomórfica, 277
Aconitum carmichaeli, 374
Aconitum espécies, 374
Acremonium coenophialum, 374
ADAL, (ácido δ-aminolevulínico), 330-331
Adenoma túbulo-estromal, 306
Adesão célula-célula, 195
ADH (álcool desidrogenase,) 74, 75
Administração de risco,
  decisões, 49
  definições, 49
Administração de Saúde e Segurança Ocupacional (OSHA, Occupational Safety and Health Administration),
Adrenais, glândulas, 298
Adrenais, medula,
  estrutura normal e função 299
  toxicidade à medula adrenal, mecanismo da, 299
Adrenal, córtex,
  células corticais,
    lesões proliferativas e alterações patológicas, 299
  estrutura normal e função, 298
  toxicidade cortical adrenal, mecanismo de, 298-299
Adriamicina vs. Doxorrubicina
Aductos de DNA, 279
Aesculus hippocastanum, 373
Agência de proteção ambiental (EPA), 9
Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), 54
Agentes ocupacionais,
  avaliação toxicológica,
    estudos em animais, 435
    risco ocupacional, avaliação do, 434
    testes toxicológicos em animais, 434
    vigilância da saúde do trabalhador, 434-435
    classificados pela IARC, 433*t*
  monitoração de exposição,
    ambiental, 435
    biológica, 435-436
Agranulocitose, 155
Água potável, contaminação com solvente, 339
AHR. *Ver* RAH (receptor aril de hidrocarboneto) 393
AINE (fármacos anti-inflamatórios não esteroides), 198, 202
Álcool desidrogenase (ADH), 74, 75, 344
Aldeído desidrogenase (ALDH), 75
Aldeído oxidase, 76
ALDH (aldeído desidrogenase), 75
Alergenos, contato comum, 275*t*
Alergia química, 7
Aleurites fordii. Ver noz tung
Alimento pronto para comer (APC), 402
Alimentos,
  constituintes transportadores entéricos, sistemas 402*t*
  micotoxinas, 408-409*t*
  nível de preocupação, atribuição de, 403-404*t*
  reações anafilactoides, 406-407*t*
  reações idiossincráticas, 406-407*t*
  reações metabólicas, 407-408*t*
  substâncias não nutrientes, 402*t*
  testes de toxicidade, 404-405*t*
Alimentos alergênicos, mediado por IgE, 406*t*
Alterações cromossomais, 117, 127-128
  ensaios genéticos de, 130-132
  formação das, 127-128
  induzida por raios X em células de ovário de hamster Chinês 130-131*f*
Alterações genéticas,
  impactos na saúde por, 124-125
  mecanismos de indução de alterações genéticas, 127-128
    lesão no DNA, 125-126, 126-127*f*
    mutações nos genes, 127-128
    reparo no DNA, 125-128
  testes para detectar, 127-133
Alvéolos, micrografia dos, 208*f*
Amanita muscaria, 376
Amanita ocreata, 375
Ambliopia álcool-tabaco, 245
Ameriurus nebulosus, 395
Amifostina, 152
Amina Oxidase Sensível à Semicarbazida (AOSS), 77
Aminas e amidas aromáticas, 113
Aminoácidos excitatórios (AAE), 376
Aminoácidos fosfonometílicos, 320-321
Aminoglicosídeos, 202
  anfotericina B, 202
  nefrotoxicidade induzida por ciclosporina, 202
  nefrotoxicidade por cisplatinal, 202
  radiocontrastes, 203
Análise de avaliação de risco microssérie,
Anemia, 150

Anemia aplástica,
fármacos e outras substâncias associadas com o desenvolvimento de, 152*t*
Anemia aplástica induzida por fármacos, 152
Anemia hemolítica imune, 154
Anemia hemolítica não imune, 154
Anemia megaloblástica, xenobióticos associados com, 152*t*
Anemia por deficiência de ferro, 151
Anemia sideroblástica, xenobióticos associados com, 151*t*
Anemias microangiopáticas, 154
Aneuploidia, teste de, 130-132
Antagonismo, tipos de, 8, **8**
Antagonismo de receptor, 8
Antagonismo disposicional, 8
Antagonismo funcional, 8
Antagonismo químico, 8
Antagonistas de receptores da angiotensina, toxicidade de desenvolvimento dos, 139
Antiandrógenos, exposição durante o desenvolvimento, 143-144
Anticoagulantes lúpus, 157
Anticoagulantes orais,
janela terapêutica dos, 157
xenobióticos que afetam os, 158
Anticorpos
classificação dos, 166
inibição, dos 86
Anticorpos, resposta aos
cinética da, 169*f*
interações celulares na, 169*f*
Antígeno
definição, 166
reconhecimento, 164
Antivenenos, 369
AOSS (Amina Oxidase Sensível à Semicarbazida), 77
APC (alimento pronto para comer), 402
Aplasia de célula vermelha pura, 152
Apoptose, 35-36, 37*f*
de células danificadas, 38-39
insuficiência da, 42
papel na morfogênese normal, 140-141
Aprotinina, 158
Aracnídeos
aranhas, 364-365
carrapatos, 365-366
escorpiões, 363-364
Aranhas
Agelenopsis espécies, 364
Cheiracanthium espécies, 365
Latrodetus espécies, 364
Loxosceles espécies, 364-365
Steatoda espécies, 365
Theraphosidae espécies, 365
toxinas, 364*t*
Arritmias, 252
Arritmias ventriculares, 252
Arsênio, 279
As doenças de mineração e outras doenças de mineiros, 2
Atividade ATPase, 221
ATP (trifosfato de adenosina)
depleção, 30, 33, 34
disponibilidade de forma de morte celular, 36
síntese (fosforilação oxidadita) na mitocôndria, 33*f*
Aumento sustentado de cálcio intracelular por substâncias causadoras, 35
mecanismos, 33
Autoanticorpos induzidos por fármacos, 154
Autoimunidade
mecanismo de, 175
substâncias químicas associadas com, 175*t*
Avaliação da fagocitose, 170
Avaliação de carcinogenicidade
classificação IARC, 119*t*
em humanos, 118-120
sistema de testes para,
modelos animais, 118
testes crônicos, 117-118
testes de curta duração, 117
Avaliação de risco
arcabouço de, 47-48, 48*f*, 49
considerações quantitativas na
avaliação de exposição, 54
avaliação dose-resposta, 51-53
variações na suscetibilidade, 53-54
definição de, 47, 48
desafios da, 49
elementos de, 146-147
objetivos da, 48
para as substâncias tóxicas no desenvolvimento, 146-147
testes para, 159*t*
uso de dados epidemiológicos na, 50, 51
Avaliação de risco de câncer, 124-125
monitoração da população humana quanto a, 132-134
Avaliação de risco ecológico, 398
Avaliação de risco genético, 125-126, 125-126*t*
Avaliação de segurança
concordância de resultados, 146
estudos epidemiológicos reprodutivos, 144-146
extrapolação do dados de testes animais, 146-147
protocolos de testes, 143-144
saúde das crianças, 143-145
testes alternativos para, 144-145
Axonopatia, 222
Axonopatias, diagrama esquemático de, 228*f*

B

β, β'-Iminodipropionitrila (IDPN), 226
Barreira sangue-cérebro (BSC) 65, 220, 221, 229
diagrama esquemático, 220*f*
Besouro de bolha, gen. *Epicauta,* 366
Bifenilas policloradas (PCBs), 143-144
Bile, formação da
bile do lume canalicular, 183
e transportadores, 182, 182*f*
força motora da, 181, 182
Biodisponibilidade, 102
Biodisponibilidade de venenos, 362
Bioensaio com animais, 50
Bioensaios órgão-específicos, 118
Biotransformação, 24
aspectos esteoquímicos da, 72
cofatores da fase II, 87
definição, 72
e localização subcelular, 73*t*
vs. metabolismo, 72
xenobióticos, 72
Biotransformação mucosal, 67
2,3-Bisfosfoglicerato (2,3-BPG), 153
Blastocisto, 140
Bloqueio cardíaco, 252
Bloqueio da junção neuromuscular, 376-377
Bócio, substâncias bociogênicas, mecanismo de ação, 300*f*
BSC (barreira sangue-cérebro), 65, 220, 221, 229
representação esquemática, 220*f*
BUN, nitrogênio ureico sérico, 199

C

CAAs, células apresentadoras de antígenos, 168
Caderinas, 39
Cádmio, toxicidade por, 329-330
Calcitonina (CT), 297
Camada de fibra nervosa, 244
Camada nuclear externa, 236
Camada plexiforme externa (CPE), 236
Camada plexiforme externa, 236
Câncer, 328-329
Câncer de pele, 279, 328-329
  hidrocarbonetos aromáticos policíclicos, 279
  promotor de tumor em pele de camundongo, 279
  radiação, 279
  substâncias químicas de reação cruzada, 276*t*
Câncer pulmonar humano, 212
Capacidade pulmonar total (CPT), 206
Captação e concentração, 186
Captana e folpete, 321
Caramujos. *Ver Mollusca*
Carbono ultrafino, 385
Carboxilesterases, 72-73
Carcinogênese química
  causas de
    falha em terminar a proliferação celular, 42
    falha na apoptose, 42
    falha no reparo pelo DNA, 42
  e a comunicação intercelular na fenda juncional, 115
  em humanos, 118-120
  hormese e, 116
  modelo de multiestágios, 110-111, 111*f*
  terminologia, 110*t*
Carcinogenicidade de metais, 113
Carcinogênios inorgânicos, 113
Carcinógenos
  com tratamento médico e diagnóstico, 119
  epigenético, 114-115
  genotóxico, 110, 110*t*
    ação direta, 111-112
    ação indireta, 112
    classes de, 113
  inorgânicos, 113
  mecanismo de ação dos, 111-117
  modificação do ADN, 112
  não genotóxico, 110, 110*t*
Carcinógenos genotóxicos, 110, 110*t*
  ação direta, 111-112
  ação indireta, 112
  classes de, 113
Carcinógenos não genotóxicos, 42, 44
  modo de ação bioquímico dos, 114-115
Carcinógenos ocupacionais humanos, 119*t*
Carcinógenos tipo fenobarbital, 114
Carcinoma de célula basal, 328-329
Cardiomiopatia hipertrófica, 252, 253
Cardiomiopatia isquêmica, 252
Cardiotoxicidade
  citocinas, 258-259
  mecanismos gerais de,
    alteração do fluxo sanguíneo nas coronárias, 254
    apoptose e oncose, 254-255
    de substância de ocorrência natural, 259*t*
    disfunção organelar, 254
    esteroides e hormônios, 258
    estresse oxidativo, 254
    homeostasia iônica, 253-254
    substâncias industriais, 260*t*
Cardiotoxicidade induzida por catecolaminas, 255
CAS (concentração de álcool no sangue), 414
CCPG (Células Contendo Pequenos Grânulos, 299
Célula C, adenoma, 302
Célula C, carcinoma, 303
Célula C, hiperplasia, tipos de, 302
Célula C, neoplasia, hiperplasia nodular e focal, 303*f*
Células apresentadoras de antígenos (CAAs), 168
Células C tireóideas
Células Claras, 206, 207
  cultura de, 216
Células Contendo Pequenos Grânulos (CCPG), 299
Células corticais adrenais, 298, 299
Células de Ito, 181
células de Kupffer, 181
  classificação,156
  definição, 156
Células de Leydig, 305, 306
  ratos/camundongos, nos estudos de exposição crônica, 306*t*
Células de Schwann, 222
Células de Sertoli, 305
Células endócrinas, tipos de, 296
Células endoteliais, esfoliação das, 264
Células endoteliais vasculares, 261
Células epiteliais alveolares, 319
Células excitáveis eletricamente, desrregulação das, 30
Células fagocitárias, 165
Células foliculares, 299
Células germinativas, 124-125
Células lesadas, "plano de decisão" no destino da, 36*f*
Células *natural killer*, 165
Células polimorfonucleares (PMN), 165
Células sinusoidais, ativação das, 188
Células somáticas, 124-125
  hormônio inibidor da liberação de somatotrofina (HILS), 296
Centípedes. *Ver* quilópoda
Centruroides exilicauda, 363
Ceratinócitos de célula basal, 271
Ceruloplasmina, 327-328
CGH (hibridização genômica comparativa), 133-134
Chrysanthemum cinerariaefolium, 316
Ciclo de divisão celular, controle por proteínas reguladoras, 43*f*
Ciclo entero-hepático, 183
Ciclo reprodutivo feminino
  controle endócrino do, 285*f*
  locais de ação, 286*f*
Ciclo reprodutor, **282**, 282*f*
Ciclodienos, compostos, 317
Ciclos de humanos e de ratos, comparação de, 287
Ciclosporina, 198
Cicuta maculata, 376
Cirrose, 185
Citocinas
  fontes e funções das, 167-168*t*
  resposta neuro-hormonal e, 40
Citocromo hepático P450 metaboliza bromobenzeno, 202
Citocromo P450, 187, 188, 198, 215, 272
  biotransformação pelo, 86
  classificação do, 82, 83
  durante catálise, 80
  fatores ambientais que afetam o, 83, 86
  indução do, 87
  indução pelos xenobióticos, 83
  inibição do, 87
  ligação do heme ferro ao, 82

reações catalizadas por
clivagem dos ésteres, 82*f*
desalquilação heteroátomo, 81*f*
desidrogenação, 83*f*
epoxidação, 79*f*
hidroxilação, 78*f*
transferência de grupo oxidativo, 81*f*
substratos, inibidores e indutores de, 84-85*t*
xenobióticos ativados por, 86
Citocromo P450, enzimas, 298
Citocromo P450 sistema monoxigenase, 207
Citometria de fluxo, 171
Citotoxicidade de carcinógenos não genotóxicos, 114
Citotoxicidade mediada por células, 169*f*
ligação célula efetuador na, 168
Clearance, 102
Clearance pulmonar, 210
Clearance traqueobronquial, 210
Cloroacetanilidas, 320
Clorofórmio, 342
Cloroquina, 244
CMI (imunidade mediada por células), 165
Cocaína, desenvolvimento de toxicidade, 139
Coeficiente de absorção de energia de massa, 352
para ar e água, 352*t*
Colestase canalicular,
definição, 183
mecanismos moleculares, 183, 184*f*
Colinesterases, 73
Compartimento de difusão limitada, 106, 106*f*
Compartimento perfusão limitada, 105-106
Complexo de Golgi, 299
Complexos desviadores da luz, 243
Complexos DNA-proteínas, 327-328
Componentes da matriz extracelular, 261
Compostos bipiridila, 319-320
Compostos estranhos, biotransformação de
Compostos orgânicos voláteis (COV), 339
Compostos produtores de trombose, 262*t*
Compostos tóxicos associados à neurotransmissão, 230*t*
Comunicação intercelular na fenda juncional e carcinogênese,115
Concentração de álcool no sangue (CAS), 414
Conjugação de aminoácidos com xenobióticos, 94
Conjugação de xenobióticos com aminoácidos, 92*f*
Conus peptídeos, diagrama organizacional para, 367*f*
Convallaria majalis, 374
Cooxidação peroxidase dependente, 77
Coração
diagrama, 250*f*
eletrofisiologia cardíaca, 251-252
estrutura cardíaca, 250-251
Córnea, locais alvo e mecanismos
ácidos, 242
bases/alcalinos, 242
solventes orgânicos, 242
surfactantes, 243
Corneocitos, 271
Cortexolona, 299
COV (Compostos orgânicos voláteis), 339
CPE (camada plexiforme externa), 236
CPT (capacidade pulmonar total), 206
CRH (hormônio liberador de corticotropina), 298
CSE (encefalopatia crônica por solvente), 339
CSF (Líquido cérebro espinal), 67
CT (calcitonina), 297
Curva dose-resposta, 51*f*
CYP2E1 humano, 344

D

DAG (distância anogenital), 283
DAT. *Ver* TCD transportador de captação de dopamina, 231
Datura stramonium, 376
DDT (diclorodifeniltricloroetano), 289
doses de, 317
metabolitos do, 289
Decaimento α, 350
Decaimento de partículas β, 350
DEET (*N,N*-dietil-*m*-toluamida), 319
Deficiência de visão colorida, 241
Degeneração axonal, diagrama esquemático, 222*f*
Degeneração *walleriana*, 222
Delphinium barbeyi, 377
DEM (dose eritema mínima), 274
Depressão da medula óssea, 343
Depressão do SNC, 343
Dermatite alérgica de contato, **273**
Dermatite de contato, 272
dermatite de contato alérgica, 273-275
dermatite irritante, 272-273
queimaduras químicas, 273
Dermatite de fotocontato, 277
Derris elliptica, 317
DES (dietilestilbestrol), 114, 138, 289
exposição transplacentária, 289
Desemielinização, 223
Desenvolvimento infantil, 283
Desenvolvimento neonatal, 198*f*
Desenvolvimento púbere, modelo em roedores, 284-285
Desenvolvimento reprodutor e diferenciação sexual, 282-283
Desequilíbrios hormonais, 305
Desintoxicação
de nucleofilos, 25
de radicais livres, 25, 25*f*, 26, 26*f*
de substâncias tóxicas sem grupo funcional, 24
de toxinas proteicas, 26
vs. intoxicação, 24
Desrregulação celular induzida por substância tóxica, 28*f*
atividade celular em andamento, 30
desrregulação da expressão gênica, 27-30
natureza da, 27
Destino
definição, 58
e efeitos tóxicos de substâncias químicas, 68*f*
fatores que afetam, 58, 59
Diálise, 224
Diclorodifeniltricloroetano (DDT), 289
Diclorodifeniltricloroetano. *Ver* DDT
1,3-Dicloropropeno, 322
Dietilestilbestrol
exposição transplacentária,
Diferenciação sexual humana, 289
Diferenciação sexual masculina durante a gestação humana, 283*f*
Diflunisal, 142-143
Difosfato de adenina (ADP)
fosforilação oxidativa da, 254
Difusão facilitada, 60
Difusão paracelular, 59
Di-hidrodiol desidrogenase, 75
3,4-Dimetil-2,5-hexanodiona (DMHD), 226

1,3-Dinitrobenzeno (DNB), 230
Diplopoda, 366
Discurso sobre a doença dos trabalhadores, 2
Distância anogenital (DAG), 283
Distribuição, **63-65**
armazenamento nos tecidos, 64-65
das enzimas biotransformadoras de xenobióticos, 72
e placenta, 65
mecanismos facilitadores, 23-24
mecanismos oponentes, 24
volume de, 63-64
Distribuição de fármacos
absorção ocular, 239*f*
olho, nervo óptico e cérebro, 239*f*
Distúrbio pigmentar cutâneo, causas do, 278*t*
Distúrbio pigmentares, 278
Distúrbios endócrinos, **288-290**
andrógenos ambientais, 289
animais, 289
antiandrogenos ambientais,
ftalatos (plastificantes), 290
fungicidas, 289-290
linuron (herbicida), 290
estrógenos ambientais, 290
programas de escrutínio, 290
ensaios em mamíferos *in vivo*, 290
saúde humana,
efeitos conhecidos na, 289
efeitos potenciais na, 288
Ditiocarbamatos, 321
estruturas dos, 321*f*
Ditiocarbamatos fungicidas, estrutura dos, 321*f*
Divisão celular redutiva, 283*f*
D-Limoneno, 200
DMHD (3,4-dimetil-2,5-hexanodiona), 226
DNA, 117, 212, 353
aductos de,
células de mamíferos, 353*t*
e parada do ciclo celular, relações entre, 140-141, 140-141*f*
ensaios, 128-130
induzidas por substâncias químicas e agentes físicos, 126-127*f*
lesão,
tipos de, 125-126
DNB (1,3-dinitrobenzeno), 230
Doença cardíaca isquêmica, 252
Doença cardíaca isquêmica, 252
Doença de Alzheimer, 224, 334-335
Doença de Wilson, 332-333
Doença granulomatosa, 278
Doenças infecciosa e hemólise, 154
Doenças neurodegenerativas, modelos de, 232
Doenças ocupacionais
agentes, 431
doenças pulmonares, mortes nos EUA e taxas de mortes, 433*t*
doenças respiratórias ocupacionais, 431-432
determinantes da dose de substância tóxica, 430*t*
gás tóxico, 432
substâncias tóxicas, 431t-432*t*
vias de exposição, 430*f*
exposição, vias de, 431
interações metabólicas, 436
matriz para avaliação, 434*t*
Dose Benchmark (DBM), 52-53
Dose eficaz (DE), DT e DL, comparação de, 13-14, 13-14*f*
Dose eritema mínima (DEM),
Dose eritema mínima (DEM), 274
Dose tóxica (DT), DE e DL, comparação entre, 13-14, 13-14*f*
Dose-resposta com base biológica (DRBB) modelo dos objetivos, 53
desenvolvimento da, 53
Dose-resposta com base biológica (DRBB) objetivos do modelo
desenvolvimento do, 53
Doses de referência (Drefs), 52
Doxorrubicina, 226
DRBB, dose-resposta com base biológica, 53
DRCC (Desidrogenase/redutase de cadeia curta), 74
DsRf (doses de referência), 52

E

ECG (Eletrocardiograma) e potencial de ação cardíaco, 251*f*
Ecotoxicogenomica, 393
estresse oxidativo, 393
genoma e exotoxicogenoma, 393
lesão de DNA, 394
lesão proteica, 393
receptor de aril de hidrocarboneto, 393
receptor de estrógeno, 393
Ecotoxicologia
aproximações,
biomarcadores, 397
biosfera, 398
comunidade e ecossistema, 397-398
população, 397
testes de toxicidade, 396-397
efeitos tóxicos, 392-393
comunidade, 396
ecossistemas, 396
efeitos celulares, teciduais e orgânicos, 394
efeitos moleculares e bioquímicos, 392-393
efeitos orgânicos, 395-396
expressão gênica, 393
população, 395-396
escalas ecológicas, 392-393
estudos de contaminantes, 392-393
vias de exposição, 392-393
Efeito fotoelétrico, 352
Efeitos aditivos, **8**
Efeitos da inibição da ACHE, 316
Efeitos de distúrbios endócrinos, 320
Efeitos eletrofisiológicos, 258
Efeitos sinergísticos, 8
Efeitos tóxicos de varfarina, 158
Efeitos tóxicos imediatos, 8
Efeitos tóxicos retardados, 8
EGME (éter monometilglicol etileno), 288
EGME, etilenoglicol monometileter,
Eixo hipotálamo-hipófise anterior-gônada, 305*f*
Eixo hipotálamo-hipófise-testículos, regulação do, 306*f*
Eixo hipotálamo-hipófise-tireoide, locais múltiplos de interrupção, 302*f*
Elementos de resposta estrogênicos (ERE), 393
Eletroencefalograma (EEG) atividade, 343
Eliminação, 101
primeira ordem, 103
Eliminação pré-sistêmica vs. absorção, 22-23
ELISA (ensaio imunoabsorvente ligado a enzimas), 170*f*
EMBT (Éter metil-butil *terciário*),
Emissão de pósitrons, 350
Encefalopatia crônica por solvente (ECS), 339
Encefalopatia espongiforme bovina (EEB), 410
Endotélio capilar, porosidade do, 23

Endotoxinas bacterianas, 263
Ensaio de curta duração, 49
  para mutagenicidade, 117
Ensaio de Hershberger, 290
Ensaio *in vitro* Corrositex, 272
Ensaio LTC, 171
Ensaio puberal em ratas, 290
Ensaio uterotrópico, 290
Ensaios citogenéticos em mamíferos
  aberrações cromossômicas, 130-132, 130-131*f*
  aneuploidia, 130-132
  ensaios SCE, 130-132
Ensaios de transformação, 117
Ensaios transgênicos, 130-131
Envenenamento criminoso da vida, 413
Enzimas microssomais, 298
  nos pulmões, 210
Enzimas oculares biotransformadoras de xenobióticos, distribuição das, 240*t*
Enzimuria, 199
Eosinófilos, 155
EPA. *Ver* Agência de proteção ambiental, 313-314
Epidemiologia ecológica, 395*t*
Epiderme interfolicular, 271
Epitélio Pigmentado da Retina (EPR), 236
Epóxido hidrolase, 74
Epóxido hidrolase microssomal (EHm), 74
EPR. *Ver* Epitélio Pigmentado da Retina, 236
ERE (elemento de resposta ao estrógeno), 393
Eritrócitos
  funções dos, 150
  produção dos,
    alterações no, 151-152
    efeitos dos xenobióticos na, 150
  sobrevivência, alterações na, 153-154
Eritron, toxicologia do, **150-154**
ERO (espécies reativas de oxigênio), 198
  e RNS, 34, 35
Ervilha de búfalo, 373
Escala alométrica de doses entre diferentes espécies, 12*t*
Espécies ativas de oxigênio
  produção fagocítica de, 210
Espécies reativas de oxigênio, 198
EST (etiqueta de sequência expressa), 133-134
Esteatose. *Ver* fígado graxo
Esterase alvo de neuropatia (EAN), 228, 316
Ésteres do ácido fosfórico, 72
Estreptocinase, 158
Estresse oxidativo
  e carcinogênese química, 115
  e regulação do crescimento celular, 115
Estroma corneal, 242
Estrutura dos inseticidas organofosforados, 315*f*
Estrutura e função testicular
  alvos de toxicidade, 286
  ereção e ejaculação, 287
  espermatogênese, 286-287
  estudos de casos dos efeitos em machos, 288
  processos pós-testiculares, 287
Estrutura e função vascular, distúrbios da, **261**
Estruturas tubulares pós-glomerulares, 194
Estudo de toxicidade de desenvolvimento embrio-fetal, 292*f*
Estudos de multigerações, 291*f*
Estudos de toxicidade no desenvolvimento pré e pós-natal, 292*f*
Estudos epidemiológicos
  avaliação de risco, 50
  tipos de delineamentos, 51*t*
Estudos epidemiológicos reprodutivos, 144-146
Estudos randômicos domésticos controlados, resumo de dados dos, 355*f*
Etanol, 187
Éter etilenoglicol monometílico. Ver EGME
Éter metil-butil *terciário* (EMBT), 346
Etilenoglicol (EG), 341
Etilenoglicol animal, esquema metabólico para, 345*f*
Etilenoglicol monometileter (EGME), 288
Etilenotioureia (ETU), 321
Etinilestradiol, 290
Etiquetas de sequência expressa, 133-134
Eventos de desenvolvimento
  caracterização, 139
  em espécies mamíferas, 140*t*
  fatores maternos que afetam, 142-144, 142-143*f*
Exalação, 67
Excreção, **65-68**
  definição, 24
  eliminação, 67-68
  exalação, 67
  fecal, 66-67
  processos disponíveis para, 24
  urinária, 65-66
  vias e velocidade de, 24
Excreção biliar, 66
Excreção fecal, 66-67
Excreção intestinal, 67
Exposição
  avaliação,
    considerações, 54
    objetivos, 54
  categorias, 9
  duração e frequência de, 9
  velocidade de eliminação e frequência de exposição,
    relações entre, 9, 10*f*
  vias e locais de, 9
Exposição a substâncias nefrotóxicas, 203
Exposição aguda, 9
Exposição ambiental,
Exposição ao retinol, toxicidade de desenvolvimento da, 139
Exposição dermal, 312
Exposição subaguda, 9
Expressão gênica ectópica, 140-142

F

Família de peptídeos transportadores de ânions orgânicos, 59
Fármacos
  absorção ocular e distribuição de, 239*f*
  administração, relações farmacocinéticas fundamentais, 415*f*
Fármacos anti-inflamatórios não esteroides (AINE), 198, 202
  consumo crônico de, 202
Fármacos estrogênicos, 114
Fármacos GRCS, 403-404, 404-405*t*, 406
Fármacos que atuam no SNC, 301
Fator indutor de apoptose (FIA), 200
Fatores carcinogênicos relacionados com estilo de vida, 118*t*
Fatores de coagulação dependentes de vitamina K, condições associadas
  com síntese anormal de, 157*t*
Fatores modificadores (FM), 52
Feixe de fótons, intensidade do, 352
Fenitoína, 142-143
Fertilidade e estudo embrionário precoce, 291*f*
Fertilização, 139-140
FEV. *Ver* VEF (volume expiratório forçado)
Fibrinólise, inibidores da, 158

Fibrinolíticos, fármacos, 158
Fibroblastos cardíacos, 250, 251
Fibrose, 41
Fibrose hepática, 185
Fígado, **180-190**
armazenamento de substâncias tóxicas, 64
fisiopatologia,
dano hepatobiliar, 183-185, 183*t*
formação da bile, 181-183
funções do, 180, 180*t*
lesão aos hepatócitos, 374-375
micotoxinas, 375
organização estrutural do, 180, 181, 181*t*
regeneração, 188
testes de carcinogenicidade no, 118
toxicidade por lantadeno, 375
toxinas de cogumelos, 375
Fígado gorduroso, 184
Filtração, 59
FISH. *Ver* HFIS (hibridização por fluorescência *in situ*), 130-132
Fitofotodermatite, 277
Flavina monooxigenase (FMO),
Fluoroacetato de sódio, 322
Fluxo Sanguíneo Renal (FSR), 198
FM (fatores modificadores), 52
FMO (flavina monooxigenase)
ciclo catalítico da, 76*f*
mecanismo de catálise pela, 80
Fodrina, 221
Folículos de Graaf, 307
Fontes de informação, 54
Formação de mielina, 224
Formação de neoantígenos, 27
Formação do coágulo de fibrina, efeito de xenobióticos tóxicos na, 157
Formaldeído, exposição ao, 175
Fosfatase alcalina e pró-fármacos, 74
Fosfodiesterase, 368
Fosfolipase A_2 (PLA_2), 201
Fosforilação oxidativa, substâncias químicas inibidoras, 33
Foto emissão. *Ver* emissão de raios γ
Fótons, 352
Fototoxicologia
radiações eletromagnéticas, respostas adversas, 275-276
fotosensibilidade, 276-277
FSR (Fluxo Sanguíneo Renal), 198
FUDT. *Ver* TFDU (testes forenses de drogas na urina), 413-414
Fumigantes
1,3-dicloropropano, 322
enxofre, 322
metilbrometo, 322
Fumo
imunossupressão devido ao, 172
toxicologia de desenvolvimento do, 139
Fumo, 211, 328-329
Função das células gliais de Müller, 245
Fungicidas inorgânicos, 321
Fungicidas organometálicos, 321
Fusarium moniliforme, 375

G

Gambusia holbrooki, 289
Gametogênese, 139-283
Gasolina, emissão de vapores de, 343
Gasolina oxigenada, 346
Gastrintestinal, distresse, 333-334
Gênero, diferenças de, 344
Genes supressores de tumores,
características dos, 115*t*
e associação com câncer, 116*t*
gene p53, 116
gene retinoblastoma (Rb), 116
mutação, 115-116
e carcinogênese, 42
Gestação, **288**
Glândula hipotálamo-hipófise, 308*f*
Glândulas de Cowper's 290
Glândulas endócrinas, 296
Glicocorticoides, tratamento com, 258
Glicol, éter, 346
Glicosaminoglicanos precipitado, 242
Glicose, 221
Glicose-6-fosfato desidrogenase (G-6-FD), deficiência, 154
Glicosídeos cardíacos, 244, 255
Glicuronidação, 301
de xenobióticos, 89-90
Glifosato, 320-321
Glisocúria,199
Glufosinato, 321
Glutationa, conjugação com
de heteroatomos eletrofílicos, 94
de xenobióticos, 95-96
e biossíntese de ácido mercaptúrico, 95*f*
Glutitiona-S-transferase (GST), 115
GnRH (hormônio liberador de gonadotrofina), 305
Gordura, acúmulo de substâncias tóxicas na, 64
Gradiente acinar, 180
Granulócitos
avaliação de, 155
definição, 155
efeitos tóxicos em, 155
Graves, mal ou doença de, 302
GRCS (geralmente reconhecido como seguro), 403-404
Gymnodinium breve, 407-408

H

Helicobacter pylori, 327-328
HEM (hidrolase epóxido microssomal), 74
Hematopoiese, 150
Hematotoxicidade, 150
Hematotoxicologia, 150
Heme, biossíntese e interrupção por chumbo, 330-331*f*
Heme e síntese de hemoglobina, 151*f*
Hemodiálise, 422
Hemoglobina
afinidade por oxigênio e temperatura corporal, 153
função respiratória da, 153
funções da, 152
propriedades heterotrópicas da, 153
propriedades homotrópicas da, 152, 153
Hemoglobina-oxigênio, curvas de dissociação, 153
Hemólise induzida por substâncias químicas não oxidantes, 154
Hemólise oxidativa, 154
Hemoperfusão, técnica de, 422
Hemostasia, efeitos tóxicos de xenobióticos na, 157-158
Heparina, 158
Hepatite, 188
Hepatócitos
bioativação e desintoxicação,
acetaminofeno, 186, 187
citocromo p450, 187, 188

etanol, 187
tetracloreto de carbono, 188
desorganização do citoesqueleto, 184
morte celular, 183
Hepatotoxicidade, fatores para lesão local-específica da, 186*f*
Hepatotoxicidade idiossincrática por fármacos, 189, 189*t*, 190
Herbicidas, 319
mecanismos de, 319*t*
Herbicidas clorofenoxi, 319
Herbicidas pré-plantação, 319
Herbicidas triazina, 320
HEs (Epóxido Hidrolase solúvel), 74
Hexaclorocicloexanos
e ciclodienos, 317
Hexaclorofeno, 229
HFIS (hibridização por fluorescência *in situ*),130-132
Hibridização genômica comparativa (HGC), 133-134
Hidrocarbonetos aromáticos, 113
Hidrocarbonetos halogenados
bromobenzeno, metabolização do, 202
clorofórmio, 201
tetrafluoroetileno, 201-202
Hidrolase epóxido microssomal (HEM), 166
Hidrolase Epóxido solúvel (HEs), 74
Hidrolases molibdênio, 75-76
Hidrólise de ésteres do ácido carboxílico, amigas e tioesteres, 72
Hidróxido de potássio, 242
Hipersensibilidade citotóxica dependente de anticorpos, 173
Hipersensibilidade de contato, 173
avaliação da, 174
Hipersensibilidade mediada por células, 173
Hipersensibilidade mediada por complexo imune, 173
Hipersensibilidade pulmonar, avaliação de, 174
Hipersensibilidade respiratória, avaliação da, 174
Hipersensibilidade sistêmica, 176
Hipertrofia cardíaca, 252
Hipervitaminose D, 207
Hipocalcemia, 304
Hipófise
células hipofisárias,
alterações morfológicas e lesões proliferativas das, 297-298
estrutura normal e função, 296
hiperplasia e neoplasia hipofisária, 298
mecanismos de toxicidade hipofisária, 296-297
Hormese e carcinogênese, 116
Hormônio anti-mülleriano, 283
Hormônio liberador de corticotropina (HLC), 298
Hormônio liberador de gonadotrofinas (GnRH), 305
Hormônio liberador de tireotropina (TRH), 296
Hormônio paratireoideo (PTH), 303
biossíntese do, 304*f*
células chefe da paratireoide,
lesão proliferativa das, 304-305
estrutura normal e funções,
biossíntese do PTH, 303-304
controle da secreção do PTH, 304
interrelações do, 303*f*
toxicidade induzida por substâncias químicas estranhas,
L-asparaginase, 304
líquidos contendo alumínio, 304
ozônio, 304
Hormônio paratireoideo imunoreativo (HPTi), 304
Hormônio sexual masculino, testosterona, células intersticiais de Leydig, 282
Hormônio tireoideo, 301
biossíntese do, 300, 300*f*, 301*f*
Hormônios inibidores de liberação (HIL), controle dos, 297*f*
Hormônios neuro-hipofisários, 296

I

IDA (ingestão diária aceitável), 403-404
IDE (ingestão diária estimada), 403-404
Idiossincrasias alimentares, 406
IDPN (β, β'-iminodipropionitrila), 226
IgE, resposta de hipersensibilidade mediada por, 174
Igs (imunoglobulinas)
definição, 166
tipos de, 166
Imunidade, 164
Imunidade adaptativa
componentes celulares, 168
especificidade e memória, 166
Imunidade inata
adquirida vs., 166
componentes celulares, 165
componentes solúveis da, 165, 166
definição, 164
fagocitose de patógenos, 170
funções da, 164-165
Imunidade mediada por células (IMC), 165, 168
Imunidade mediada por humor, 168
teste PFC, 170-171
Imunocompetência, métodos de avaliação, 170-171, 170*f*
Imunoglobulinas (Igs)
definição, 166
tipos de, 166
Imunologia neuroendócrina, 170
Imunoreatividade a CT varia, 303
Imunossupressão por xenobióticos, 172,172*t*
Imunotoxicologia
biologia molecular para, 171
biomarcadores para, 176
desafios em, 176
enfoques mecanísticos para, 171
enfoques reguladores, 171
métodos de toxicologia computacional para, 176
modelos animais em, 171
Imunotoxicologia de desenvolvimento, 168
Índice de integridade biótica (IIB), 396
Índice Terapêutico (IT)
de fármacos, 13-14
definição, 13-14
Infarto do miocárdio, 258
Infecção fúngica, 375
Inflamação, 39-40
Ingestão diária aceitável (IDA), 52
Ingestão diária aceitável, (IDA), 52, 313-314, 403-404
Ingestão diária estimada (IDE),
Ingestão não absorvida, 66
Inibidores da ECA (enzima conversora de angiotensina), 198
toxicidade do desenvolvimento, 139
Inibidores de enzima conversora de angiotensina (ECA), 198
toxicidade de desenvolvimento, 139
Inseticidas
alvos moleculares, 314*t*
carbamatos, 316
compostos organofosforados,
biotransformação, 314
polineuropatia retardada induzida por organofosforados (PRIOF), 316
síndrome intermediária, 314-316
toxicidade, sinais e sintomas da, 314
tratamento do envenenamento com, 314
papel no controle dos insetos, 313-314
piretrinas, 316-317
Inseticidas piretroides, classificação dos, 317*t*

Insetos
heteroptera, 366
hymenoptera,
apidae, 366
formicidae, 366
vespidae, 366
lepidoptera, 367
Insuficiência cardíaca, 252
hipertrofia cardíaca, 253*f*
Insuficiência renal, água causada por substâncias químicas, mecanismo de, 196*t*
Insuficiência renal aguda (IRA), 195
mecanismos FGR, 196*f*
Integridade imunológica, avaliação da, **170-172**
Interação antígeno-anticorpo, 8
Interações de ligantes com proteínas plasmáticas, 64*f*
Interações do Receptor de Neurotransmissor com o Toxicante, 30
Interações terminador de sinal-substância tóxica, 30
Interações transdutor de sinal-substância tóxica, 30
Intoxicação
definição, 24
vs. desintoxicação, 24-26
Intoxicação aguda, sinais e sintomas da, 315*t*
Intoxicações humanas, 322
IRA, insuficiência renal aguda, 195
Isoformas p450, 340
Isquemia miocárdica, efeitos de espécies de oxigênio reativas prejudiciais na, 254*f*
Junção terminal não homóloga (NHEJ), 126-127

K

Kalmia angustifólia, 374
Karwinskia humboldtiana, 376
Keap1/Nrf2, sinalização por, 41*f*

L

Lábio leporino e/ou palato aberto (LL[PA]), incidência de, 142
Lectinas tipo ricina, 374
Lesão celular, ligação covalente/não-covalente vs. estresse oxidativo, 200*f*
Lesão de células tubulares renais, 197*f*
Lesão de musculoesquelético, 117, 127-128, 130-132, 132-133*f*
Lesão hepática causada por toxinas,
fatores críticos na, **185-190**
mecanismos e tipos de, **183-185**
Lesão mielínica, compostos, 229*t*
Lesão mitocondrial, 189
Lesão neuronal, compostos, 225*t*
Lesão no ducto biliar, 184
Lesão por isquemia-reperfusão (I/R), 254
Lesão pulmonar
avaliação da
enfoques *in vitro*, 216
estudos de função pulmonar, 215
lavagem pulmonar, 216
sistemas de exposição inalatória, 215
técnicas morfológicas, 215-216
doenças pulmonares,
em humanos,
substâncias presentes no ar, 212-214
substâncias presentes no sangue, 214-215
estrutura e função pulmonar,
princípios gerais,
clearance de partículas, 210
deposição e eliminação de partículas, 209
inalantes tóxicos, gases e dosimetria, 209
mecanismos de deposição, 209
nanotoxicologia, 209
tamanho das partículas, 209
região de trocas sangue e gases, 206
difusão, 207
passagens nasais, 206
perfusão, 207
ventilação, 206-207
respostas agudas,
carga oxidativa, 210
edema pulmonar tóxico, 211
lesões no trato respiratório, mecanismos de, 210
proliferação celular, 211
reatividade das vias aéreas, 211
respostas crônicas,
asma, 212
câncer pulmonar, 212
enfisema, 211-212
fibrose, 212
pulmão em desenvolvimento, 212
vias aéreas de condução, 206
Lesão pulmonar tóxica, 216
Lesão sinusoidal, 184
Lesão tubular crônica, 341
Leucemia linfoblástica aguda (LLA), 156
Leucemia mielógena aguda (LMA), 156
Leucemia mielógena crônica (LMC), 156
Leucemogênese como resposta tóxica, **156**
Leucócitos, 216
Leucócitos do sangue, componentes do, 154-155
Leucon, 154
Leucostasia pulmonar, 210
Limiar, conceito de, 140-141
Linfócitos B e APCs, 168
Linfopoiese, 150
Lipofilicidade, 339
Lipoproteínas plasmáticas,
metabolismo oxidativo das, 261
Líquido cerebrospinal (CSF), 67
Lítio, carbonato de, 334-335
Livro de Jó, 2
LLA (leucemia linfoblástica aguda), 156
LMA (leucemia mielógena aguda), 156
LOAL (menor concentração para observar um efeito adverso), 52
Lonchocarpus urucu, 317
LTC – linfócito T citotóxico, 166, 169*f*
Lupinus formosus, 377

M

MAC. *Ver* CAM (complexo de ataque à membrana), 166
Macrófagos, 165
Manihot esculenta, 375
Manutenção da mielina, 223
MAO (monoamina oxidase), 76-77
Mapeamento de enzimas. *Ver* Reações fenotipificadoras
Margem de segurança, 13-15
Maturidade sexual
ciclo ovariano, 286
eixo hipotálamo-hipófise-gonadal, 285
função ovariana,
bussulfano, 285-286
oogênese, 285
m-Dinitrobenzeno (*m*-DNB), 288
Mecanismos de adaptação à toxicidade, 40
Mecanismos de desalogenação, 74-75
Mecanismos de toxicidade, 23*f*, **27-36**
disfunção celular, **27-36**

entrega da substância tóxica ao seu alvo, **22-26**
importância do entendimento, 22
reação da substância tóxica com moléculas alvo, **26-27**
reparo e falha no reparo, **36-44**
Mecanismos não fotodinâmicos, 277
MED. *Ver* DEM
mEH. *Ver* HEM (hidrolase epóxido microssomal), 74
Meia vida de eliminação (T1/2), 102
Membrana celular, transporte das substâncias tóxicas através da,
por transporte especializado, 59-60
por transporte passivo, 59
Membrana limitante externa (MLE), 244
Membrana plasmática, transporte de substâncias tóxicas através, 23, **59-60**
Mercúrio
ambiental, movimentação do, 331-332*f*
na atmosfera, 331-332
vapor de, 330-331
Metabolismo vs. biotransformação, 72
Metal
ambiental, movimentação do, 326-327
como substâncias tóxicas, 326-327
definição, 326-327
fundição, 384
intoxicação, 327-328
toxicologia,
arsênio, 327-329
cádmio, 328-330
chumbo, 329-331
cobre, 332-333
farmacologia do, 327-328
fatores de impacto, 327-328
ferro, 332-334
mecanismos químicos dos, 326-328
mercúrio, 330-333
níquel, 332-333
proteínas ligadoras, 327-328
visão geral dos, 326-327*f*
zinco, 333-335
tratamento médico,
alumínio, 334-335
lítio, 334-335
platina, 335
Metalotioneínas, 327-328
Metapopulações, 396*f*
Metemoglobinemia, 153
xenobióticos associados com,153*t*
1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina (MPTP), 224, 232
Metilação, 91
Metilação do DNA, 328-329
e carcinogênese, 114-115
Metilcarbamatos, 316
Métodos epicutâneos, 272
Microcistina, 185*f*
Micronúcleos, 130-132, 130-132*f*
Microtúbulos, 221
Mielinização, diagrama esquemático, 224*f*
Mielinopatias, 223
Mielotoxicidade, 155
Milipodas. *Ver* Diplopoda
Miócitos cardíacos, 250
apoptose dos, 255
MIT (monoiodotirosina), 299
MLE (membrana limitante externa), 244
Modelo de atividade do íon livre (FIAM), 392-393
Modelo de dois compartimentos, 100-101
Modelo de enfisema e fibrose em ratos, 211*f*
Modelo de um compartimento, 100
Modelo fisiológico de compartimentos fixos, 104
Modelo mecanístico, 53
Modelos animais
avaliação de carcinogenicidade em, 118
na imunotoxicologia, 171
Modelos com base fisiológica,
compartimento central,
compartimento hepático, 107
compartimento pulmonar, 106
compartimentos de difusão limitada, 106
estrutura dos, 103-104
vantagens dos, 103
variáveis necessárias em, 104-105
Modelos de farmacocinética compartimental, 100*f*
Modelos dose-resposta, 53
Modelos toxicodinâmicos com base fisiológica, 340
Modificação de DNA, 112
Modulador Seletivo de Receptor de Estrogênio (MSRE), 307
Moléculas alvo,
atributos das, 26
destruição das, 27
disfunções das, 27
Moluscos, 367
Monitoração da população humana, 132-134
Monitoração de medicamentos terapêuticos, 415-416*t*
uso apropriado dos, 415*t*
Monitoração terapêutica, função analítica na, 414-416
Monitorização biológica, papel analítico na 415-416
Monoamina oxidases (MAO), inibidores de,285
Monocrotalina (MCT), 214
Mortalidade por câncer durante a vida, 354*t*
Morte celular, 199
e morfogênese, 140-141
Morte celular programada, 140-141
Morte por envenenamento
investigação toxicológica, 413
MRE. *Ver* APC
MSRE (Modulador Seletivo de Receptor de Estrogênio), 307
MTBE. *Ver* EMBT
Mutação gênica,
em eucariotos não mamíferos, 128-130
em mamíferos, 128-131
em procariotos, 128-130
formação da, 127-128
Mutação letal dominante, 132-133
Mutações espontâneas, 127-128
Mutagênese, 112
Mutagênese de células germinativas, 130-133

N

N,N-dietil-*m*-toluamida (DEET), 319
NAD (nicotinamida adenina dinucleotídeo), 368
NADH – ubiquinona redutase, 317
Naftaleno dihidrodiol, 243
Necrólise Epidermal Tóxica (NET), 278
Necrose, 35
em hepatócitos, 183
Necrose tissular
causas da, 41
evolução da lesão celular a, 40
Nefrotoxicidade crônica por lítio, 334-335
Nefrotoxicidade induzida, 202
Nefrotoxicidade por cisplatina, 202
Neoantígenos, formação de, 283
Neoplasias induzidas quimicamente, 185

Nervo e trato óptico
locais alvo e mecanismos de ação,
dissulfito de carbono, 245
etambutol, 245-246
NET (Necrólise Epidermal Tóxica), 52
Neurofilamentos, 221
Neurônios, metabolismo aeróbico dos, 221
Neuronopatias, 222, 223
Neurotoxicidade, **224-232**
astrócitos,
amônia, 230
nitroquímicos, 230
axonopatias,
acrilamida, 226
compostos organosforforados, 228
dicetonas gama, 226
dissulfito de carbono, 226
IDPN, 226
neurotoxicidade associada a microtúbulos, 229
piridinetionas, 228-229
doenças neurodegenerativas,
modelos de, 232
manifestações funcionais, 224
mecanismos de, 224-232
aconopatias, 226-229
astrócitos, 230
mielinopatias, 229-230
neuronopatias, 224-226
mielinpatias,
chumbo, 229-230
hexaclorofeno, 229
telúrio, 229
neuronopatias, 224
doxorrubicina, 226
metil-mercúrio, 226
toxicidade por dopamina, 6-hidroxidopamina e catecolaminas, 226
neurotoxicidade associada a neurotransmissão, 230
aminoácidos excitatórios, 231-232
cocaína e anfetaminas, 231
nicotina, 231
neurotransmissão, 230-232
Neutrófilos, 155
Neutropenia de mediação não imune, 155
Neutropenia imune e não imune, 155
Neutropenia tóxica idiossincrática, 155
Nicotiana glauca, 376
Nicotiana rústica, 318
Nicotina, 318
Nicotina tabacum, 318
Nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD), 368
Níquel, cádmio, baterias, 328-329
Nitrogênio ureico sérico (BUN), 199
Nitro-redução, 74
Nível de efeito adverso não observado (NOAELs), 51
NOAELs (Nível de efeito adverso não observado), 51
para cálculo de avaliação de risco, 52
Nódos linfáticos, 210
Noz de Tung 373
Noz tung (*Aleurites fordii*), 373
NTE. V*er* EAN, *esterase alvo de neuropatia*
Nutrientes, 243

O

O^6-metilguanina-DNA metiltransferase, reparação, 127-128
Objetivos da toxicidade, 139-140
Olho, lentes
locais alvos e mecanismos,
corticosteroides, 243
fármacos fenotizínicos, 243
luz e fototoxicidade, 243
naftaleno, 243
Olho, seção horizontal diagramática do, 237*f*
Oncogenes, 124-125
Oócito mamífero, 283
Opistótono, 364
OPL. V*er* CPE (camada plexiforme externa), 236
Organogênese, 140
Órgãos linfoides primários, 164
OSHA (Occupational Safety and Health Administration). V*er* Administração de Saúde e Segurança Ocupacional
Osso, armazenamento das substâncias tóxicas no, 64-65
Oxidação, biotransformação de xenobióticos por, **75-89**
álcool desidrogenase, 75
aldeído desidrogenase, 75
aldeído oxidase, 76
do etanol, 75*f*
flavina monooxigenase, 80
molibdoenzimas, 75-76
monoamina oxidases, 76-77
peroxidases, 77-80
xantina desidrogenase, 76
Oxigênio, toxicidade do,
Ozônio, 209

P

Paciente envenenado
ácido acetilsalicílico, 424-425
anticolinérgicos, 425-426
carvão, agentes, 423*t*
cogumelos Clitocybe dealbata, 425-426
diagnóstico diferencial, 421*t*
enveneamento por plantas tóxicas,
envenenamento por chumbo, 424-425
envenenamento por ferro, 424-425
estratégias clínicas de tratamento, 419
anamnese, 420
avaliação laboratorial, 420-421
cuidados de apoio, 423
estabilização clínica, 419-420
exame clínico, 420
exame radiográfico, 421
prevenção da absorção do veneno, 422
uso de antídotos, 423
fármacos, 421*t*
fármacos de hemodiálise, 422*t*
fenilpropanolamina, 426
hormônio tireóideo, 425-426
interações múltiplas de fármacos, 425-426
metanol, 424-425
nafta, 424-425
odores característicos, 420*t*
organofosforados, 424-425
Padrões de lesão neurotóxica, diagrama esquemático, 223*f*
Papiro de Ebers, 1-2
Paracetamol, 186, 187
nefrotoxicidade, 202
Paraoxonases, 74
Paraquat, mecanismo de toxicidade, 320*f*
Paratireoides, 304
Parede e flora intestinal, 67

Parkinson, Doença de, 232
Partículas de raios cósmicos de alta energia, 351
Partículas de transferência de energia linear alta (LET), 351
Partículas inaladas pela nasofaringe, deposição fracional prevista, 207*f*
PCBs (bifenilaspolicloradas), 143-144
Peixe zebra, exposição ao cobre em, 394
Pele
  dermatite alérgica, 372-373
  dermatite de contato, 372
  fotossensibilidade, 373
  testes de carcinogenicidade, 118
  testes em animais, 274
Pele humana
  absorção de substâncias tóxicas através da, 63
  absorção percutânea, 271-272
  biotransformação, 272
  diagrama da, 270*f*
  histologia, 270-271
  seção transversal da, 63*f*
PEPs (Potenciais Provocados Padrão), 241
Peptidases, 74
Peptídeo natriurético atrial (PNA), 255
Percepção de risco
  atividades alternativas, 54
  ilustrações usando o diagrama eixo "espaço risco", 55*f*
Perda de energia das partículas β, 352
Perda de sangue, causas de, 151
Perda de visão colorida dose-resposta, 245
Perda neuronal, 224
Perdas auditivas, 335
Permeabilidade mitocondrial de transição (PMT), 200
  e ATP, 36
  e necrose, 35
  e vias apoptóticas, 35-36
Pesticidas
  classificação recomendada pela OMS, 313-314*t*
  definição, 312
  envenenamento humano, 312-314
  exposição, 312
  mandado regulador, 313-314
  testes toxicológicos básicos, 313-314*t*
  uso de, 312
PEV padrão (PEPs), 241
PEV provocados por flash, 241
PEVs (Potenciais evocados visualmente), 241
PHS (Prostaglandina H Sintetase), 77
Pintura cromossômica, 130-132
Piretrinas
  Chrysanthemum cinerariaefolium, 316
  sintomas de toxicidade, 316
  terminais nervosos cutâneos, 317
Piridinationa de zinco, 228
Placenta, toxicidade, 142-143
  passagem de substâncias tóxicas através da, 65
Plantas
  efeitos tóxicos de, 372
    fígado, 374-375
    junção neuromuscular, 376-377
    músculo esquelético, 376-377
    ossos e tecido de calcificação, 377
    pele, 372-373
    rins e bexiga, 375
    sangue e medula óssea, 375
    sistema cardiovascular, 374
    sistema gastrintestinal, 373-374
    sistema nervoso, 375-376
    sistema reprodutivo e teratogênese, 377
    trato respiratório, 373
  espécies de, 372
Plaquetas, toxicologia de, 156-157
Platina, complexos de, efeitos carcinogênicos da, 335
Plexo pampiniforme, 286
PMT (permeabilidade mitocondrial de transição), 200
  e ATP, 36
  e necrose, 35
  em vias apoptóticas, 35-36
Podophyllum peltatum, 373
Polimorfismo genético, 15
  no metabolismo do carcinógeno e reparo do DNA, 115
Poluição do ar, 380
  acroleína, 387
  aldeídos, 387
  ar ambiental externo,
    exposição crônica aos poluentes, 385-388
    material particulado (MP), 384-385
    poluição do ar do tipo redutor clássico, 383-384
    poluição do ar fotoquímica, 385
  área de chuva ácida, 383*f*
  asmáticos, 384
  contribuintes, ilustração dos, 381*f*
  dióxido de nitrogênio, 386-387
  efeitos na função pulmonar, 383
  efeitos na saúde, evidências epidemiológicas,
    poluição do ar externa, 380-381
    poluição do ar interna, 381-383
  formaldeído, 387
  ilustração esquemática, 388*f*
  monóxido de carbono, 387-388
  oxidantes, 387
  ozônio, 385-386, 386*f*
  poluentes prejudiciais presentes no ar, contribuição dos, 382*f*
  redução clássica,
    ácido sulfúrico, 383-384
    dióxido de enxofre, 383
  síndrome do edifício doente 382*t*
Poluição do ar, externa
  exposição aguda e episódica, 380
  exposição de longa duração, 380-381
Poluição do ar, interna
  doença relacionada a construções, 382-383
  síndrome do edifício doente, 381-382
Poluição do ar do tipo redutora, 383
Porquinho-da-índia, teste de maximização, 174
Potassa cáustica. *Ver* hidróxido de potássio
Potássio, hidróxido de, 242
Potenciais evocados visualmente (PEVs), 241
PPARα. *Ver* receptor α ativado por proliferador de peroxisona, 114
PRG (proteínas reguladas por glicose), 197
Princípios gerais de teratologia de Wilson, 139*t*
Procedimento Farnsworth-Munson, 241-242
Processo de remodelamento cardíaco, 252
Produto da permeabilidade por área da membrana, 105
Pró-fármacos e fosfatase alcalina, 74
Programa Nacional de Toxicologia (National Toxicology Program), 171
Propilenoglicol, 346
Propiltiouracil (PTU), 301
Propriedades básicas das enzimas biotransformadoras de xenobióticos, 72
  categorias de, 72
  distribuição de, 72
Propriedades hidrofílicas. *Ver* propriedades hidrossolúveis
Propriedades hidrossolúveis, 243
Prostaglandina H sintetase (PHS), 77

Proteína Ras, 42
Proteínas, reparação molecular das, 36, 37-38
Proteínas de alimentos alergênicos, 406*t*
Proteínas de choque térmico, 197
proteínas de coagulação, diminuição da produção de, 157
Proteínas de fase aguda, 40
Proteínas de transporte em hepatócitos e colangiócitos humanos, 182*f*
Proteínas derivadas de DNA-recombinante, imunossupressão devido a, 172-173
Proteínas plasmáticas como depósitos, 64, 64*f*
Proteínas reguladas pela glicose (PRG), 197
Protocolos transgeracionais, 291
Proto-oncogenes
  ativação dos, 116
  características dos, 115*t*
  mutação dos, 42
  mutação nos, 115-116
Pseudopleuronectes americanus, 395
Psoraleno em combinação com o UV-A (PUVA), 277
PST (proteínas de choque térmico), 197
Pteridium aquilinum, 375
PTH. *Ver* hormônio paratireoideo, 303-304
Puberdade masculina e feminina, controle endócrino da, 284*f*
Pulmões
  absorção de substâncias tóxicas pelos, 62*f*
    aerossóis e partículas, 62-63
    gases e vapores, 61-62
  como compartimento em modelo fisiológico, 106
  funções principais dos, 206
  risco de câncer, 355
Púrpura trombocitopênica trombótica (PTT), 157

Q

Queimaduras na pele, substâncias químicas causadoras de, 274*t*
Quelação, tratamento médico da intoxicação por metal,
Quilópoda, 366
Quimioprevenção, 116-117
Quinona, redução da, 74

R

RAAE (receptores de aminoácidos excitatórios), 231
Radiação
  decaimento das partículas β, 350
  dose efetiva coletiva, 357*t*-358*t*
  dose efetiva total, 357*t*
  emissão de raios γ, 351
  interações de,
    partículas alfa, 351
    partículas beta, 352
    raios γ, 352
    raios γ e perda de energia, 352-353
  lesão DNA, mecanismos de,
    ionização direta e indireta, 353
    núcleo da célula e deposição de energia, 353
  partículas a são núcleos de hélio, 350
  tipos de, 350
Radiação ionizante, 125-126, 351
Radiação ultravioleta (RUV), 125-126
  imunossupressão devido a, 173
Radioatividade natural, radiação de fundo, 356-359
Radionuclídeos naturais, dosagens equivalentes, 356*t*
Radônio, estudos-controle do caso, metanálise do, 355*f*
Raios γ, emissão, 351
REA (Relação Estrutura-Atividade), 49
Reabsorção tubular de líquidos, 24
Reabsorção tubular de líquidos, 24
Reação de fenotipagem, 86
Reações alérgicas, **7-8**
Reações anafilactoides, 406
Reações de conjugação,
  glicuronidação, 89-90
  metilação, 91
  N-acetilação, 93-94
  sulfonação, 90-91
Reações de hipersensibilidade
  avaliação das, 174-175
  causas das, 173
  classificação das, 173*f*
Reações fotoquímicas, 383
Reações fototóxicas, 277
Reações idiossincráticas, 8, 157
Receptor α ativado por proliferador peroxissomal (PPARα), 114
Receptor aril de hidrocarboneto (RAH), 393
Receptor estrogênico (RE), 393
Receptores α-adrenérgicos, ativação dos, 254
Receptores β-adrenérgicos, 254
Receptores de aminoácidos excitatórios (RAAEs), 231
Recombinação homóloga, 126-127
Recombinação mitótica, 128-130
Rede de dados toxicológicos (TOXNET), 54
Redução azo, 74
Redução carbonila, 74
Redução de xenobióticos, 74-75
Redução do dissulfeto, 74
Redução *N*-óxido, 74
Redutase aldo-ceto, 74
Regeneração de tecidos, 39
Regras cardinais, 414
Relação Estrutura-Atividade (REA), 49
Relações dose-resposta, 9-15
  aproximações limiares, 51-53
  aproximações não limiares, 53
  comparação de, 13-14
  curva dose-resposta em níveis baixos de exposição, 140-141
  definição, 9
  e índice terapêutico, 13-14
  forma da, 12-13
  graduada, 10
  hipotética, 13
  individual, 10, 13*f*
  nutrientes essenciais, 12-13
  para duas substâncias diferentes, 12
  potência vs. eficácia, 15, 15*f*
  premissas na derivação das, 13-14
  quantal, 10-12, 11*f*
  tipos de, 10
Reparação celular, 38
Reparação por excisão de bases 38, 125-126
Reparação tissular,
  por apoptose das células lesadas, 38-39
  por regeneração das células perdidas, 39
Reparo de disfunção, toxicidade de,
  carcinogênese, 42-44
  fibrose, 41-42
  necrose, 40-41
Reparo de nucleotídeo por excisão, 38, 125-126
Reparo de quebra de dupla fita, 125-127
Reparo de união terminal não homóloga de DNA, 112
Reparo molecular,
  de lipídeos, 38
  de proteínas, 36-38
  do DNA, 38

Reparo por excisão, 112
Reparo recombinacional, 8
Reparos de DNA, 38
aductos de DNA, 112
bases trocadas, 126-127
ensaios, 128-130
excisão de bases, 125-126
excisão de nucleotídeos, 125-126
insuficiência de, 42
mecanismos de, 112-113
MGMT e, 127-128
polimorfismo no metabolismo de carcinógenos e, 115
quebra de dupla fita, 125-127
Reparos errados de bases simples mal pareadas,
Replicação celular, 283*f*
Répteis
lagartos, 367
serpentes,
enzimas, 368
evolução do veneno, 369
polipeptídeos, 368
toxicologia da, 368-369
tratamento das picadas, 369
venenos, 368
Resposta Benchmark (RBM), 53
Resposta de fase aguda, 166
Resposta de hipersensibilidade retardada (RHR), 171
Resposta tóxica
características gerais da, 7
variações na, 15
Respostas cutâneas, 270*t*
Retículo Sarcoplasmático (RS), 254
Retina
locais alvo e mecanismos de ação, neurotoxicantes, 245
retinotoxicidade, 244-245
Retinotoxicidade
fármacos,
cloroquina e hidroxicloroquina, 244
digoxina e digitoxina, 244
indometacina, 244
quimioterapia do câncer, 244
tamoxifeno, 244-245
Rhus radicans, 372
Rhus vernix, 372
Rins, **194**
anatomia funcional,
alça de Henle, 195
classificação,
definições,
ducto coletor, 195
túbulo distal, 195
túbulo proximal, 195
vasos renais e glomérulo, 194-195
velocidade de filtração glomerular, 195
armazenamento de substâncias tóxicas no, 64
avaliação histopatológica, 199
e bexiga,
substâncias químicas carcinogênicas, 375
esquemático do, 194*f*
função renal, avaliação da,
avaliação histopatológica, 199
métodos *in vitro* e *in vivo*, 199
nitrogênio ureico sérico (BUN), 199
lesão celular renal, mecanismos bioquímicos e mediadores da,
cinases sinalizadoras, 201
citoesqueleto e polaridade celular, 200
endonucleases, 201
fosfolipase a3, 201
homeostasia do Ca^{2+}, 200
lisossomas, 200
mitocôndria, 200
morte celular, 199
proteinases, 201
toxicidade, mediadores da, 200
volume celular e homeostasia iônica, 200
nefrotoxicantes específicos,
aminoglicosídeos, 202
cádmio, 201
hidrocarbonetos halogenados, 201-202
mercúrio, 201
micotoxinas, 202
nefropatia a2u-globulina, 201
substâncias terapêuticas, 202
respostas fisiopatológicas,
adaptação após lesão por toxicante, 195-197
insuficiência renal aguda, 197-198
lesão renal aguda, 195
sistemas de transporte no túbulo proximal do, 66*f*
suscetibilidade do,
lesão ao túbulo distal/ducto coletor, 199
lesão glomerular, 198
lesão na alça de henle, 199
lesão papilar, 199
lesão tubular proximal, 198-199
nefropatia tóxica, 198
razões para, 198
Risco, identificação de, método para avaliação de toxicidade de substâncias químicas, **49-51**
Risco de comunicação
definição, 49
desafio para, 49
Ritmo cardíaco, 253
Rodenticidas
ácido fluoroacético, 322
anticoagulantes, 322
critérios, 322
RUV. *Ver* Radiação ultravioleta

S

Saliva, 67
Sangue e medula óssea
cianogênicos, 375
genotoxicidade da medula óssea, 375
Sangue oxigenado, 260
Saxitoxina, 407-408
Secreção de ACTH, 298
Segurança alimentar
reações adversas, 406-407
substâncias, configuração de segurança
animais produtores de alimentos, fármacos usados, 406-408
contaminantes, 407-408
encefalopatia espongiforme bovina (EEB), 410
fármacos microbiológicos, 407-409
resíduos pesticidas, 406-407
toxinas em peixes, moluscos e tartarugas, 407-408
Seguro, geralmente reconhecido como (GRCS), 403-404
Seleção de doses e testes de toxicidade crônica, 17
Senescência, **288**
Sensibilidade a contraste, 241
Sensibilização, 16
Sinapse, diagrama esquemático da, 231*f*
Síndrome colinérgica, 314
síndrome de Klinefelter, 342

Síndrome de restaurante chinês, 231
Síndrome de sensibilidade química múltipla (SSQM), 175-176
Síndrome mielodisplástica (SMD), 156
Síndromes mielodisplásticas (SMD), 156
Síndromes tóxicas, 420
aspectos clínicos da, 420*t*
Sintomas clínicos humanos, 320
Sintomas de envenenamento, 317
Sinusoides hepáticos, 181
Sistema cardiovascular
glicosídeos cardíacos, 374
nervos cardíacos, ação nos, 374
substâncias químicas vasoativas, 374
Sistema de ativação metabólica *in vitro*, 128-130
Sistema de complemento, 166
Sistema de reparo de DNA, 126-127
Sistema gastrintestinal, 338
absorção, 345
absorção de substâncias tóxicas pelo, 60-61
efeitos antimitóticos, 373
efeitos irritantes diretos, 373
inibição da síntese de proteínas, 373-374
Sistema imune, 168
componentes do, 164
desenvolvimento dos componentes celulares do, 165*f*
Sistema nervoso (SN), 220, **220-224**, 375
alcanos halogenados, 260
aminoácidos excitatórios, 376
bloqueio do neurônio sensorial, 376
bloqueio parassimpático, 376
convulsões epiléticas, 376
depressão, substâncias químicas, 233
desenvolvimento do, 224
desmielização do neurônio motor, 376
doenças neurodegenerativas, fatores ambientais, 224
estimulação parassimpática, 376
neurônios cerebelares, 376
solventes industriais, 260
visão geral do, 220-224
barreira sangue-cérebro, 220-221
degeneração axonal, 222
exigências energéticas, 221
formação de mielina, 222-223
neurotransmissão, 223-224
transporte axonal, 221-222
Sistema nervoso autônomo (SNA), 251
Sistema nervoso central (SNC) 220, 224, 239
locais alvo e mecanismo de ação,
chumbo, 246
metil-mercúrio, 246
Sistema reprodutivo
abortivos, 377
teratógenos, 377
Sistema vascular
diagrama esquemático, 260*f*
em toxicologia, 260*f*
Sistema visual
farmacocinética do sistema visual central, 239
farmacodinâmica e farmacocinética ocular, 236-238
metabolismo de fármacos oftálmicos, 238-239
Sistemas de informações geográficas (SIG), programas, 398
Sistemas de transporte, locais de distribuição dos, 61*t*
Sistemas de transporte de ácidos orgânicos, 66
SMD (síndrome mielodisplástica),
SMD (Síndrome mielodisplástica), 156
SNA (sistema nervoso autonômico), 251
SNC (sistema nervoso central), 220, 224, 239
Locais-alvo e mecanismo de ação,
chumbo, 246
metil-mercúrio, 246
Sociedade e toxicologia, 7
Solamunm malacoxylon, 377
Solanum dulcamara, 376
Solventes, 338
absorção de, 340
absorção GI, 340
álcoois,
etanol, 343-344
metanol, 344-345
classes de, 338
clorados,
cloreto de metileno, 342
clorofórmio, 342-343
tetracloreto de carbono, 342
tetracloroetileno, 342
1,1,2-tricloroetileno (TCE), 341-342
contaminação ambiental, 339
encefalopatia crônica, 339
éteres de glicol,
hematotoxicidade, 346
toxicidade de desenvolvimento, 346
toxicidade reprodutiva, 346
exposição ambiental, 338
gasolina, 346
glicóis,
etileno, 345-346
propileno, 346
hidrocarbonetos aromáticos,
benzeno, 343
tolueno, 343
xilenos e etilbenzeno, 343
subpopulações potencialmente suscetíveis,
fatores endógenos, 340-341
fatores exógenos, 341
toxicidade, 338
toxicocinética (TC), 339
absorção, 339-340
metabolismo, 340
modelagem fisiológica, 340
transporte e distribuição, 340
trato gastrintestinal (TGI), 340
vias de exposição, 338*f*
Solventes lipofílicos, 340
SSQM (síndrome de sensibilidade química múltipla), 175-176
Staphylococcus aureus, 408-409
Streptomyces avermitilis, 318
Substâncias alquilantes, 113
Substâncias causadoras de urticária por contato, 279*t*
Substâncias de distúrbio endócrino, toxicidade de desenvolvimento das, 143-144
Substâncias endógenas, 125-126
Substâncias estrogênicas tóxicas no desenvolvimento, 143-144
Substâncias leucemogênicas, 156
Substâncias nefrotóxicas,
Substâncias químicas
efeitos indesejados, 7-9
interações das, 8
métodos de avaliação de toxicidade para, 49-51
potencial e eficiência máxima das, 15
Substâncias químicas fototóxicas, 277*t*
Substâncias químicas xenobióticas, 301*f*
Substâncias tóxicas
absorção no TGI, 60-61
classificação, 7

concentração plasmática vs. curvas de tempo das, 101*f*
definição, 22
distribuição. *Ver* distribuição
e níveis citoplasmáticos de Ca^{2+}, 33, 34
efeitos nas moléculas alvo, 27
entrega ao seu alvo, 23*f*
absorção, 22
desintoxicação, 24-26
eliminação pré-sistêmica, 22-23
excreção vs. reabsorção, 24
fase de distribuição, 23-24
intoxicação, 24
exposição crônica, 9
neutropenia idiopática imune e não imune, 155*t*
reações com moléculas alvo, 26-27
redistribuição das, 65
vias de absorção, distribuição e excreção das, 58*f*
Substâncias tóxicas a reprodução masculina, alvos potenciais, 288*f*
Substâncias tóxicas ao coração, fármacos, 256*t*-258*t*
álcool e cardiomiopatia alcoólica, 255
anestésicos locais, 255-258
anti-histamínicos, 258
antraciclinas, 255
fármacos de ação central, 255
glicosídeos cardíacos, 255
simpaticomiméticos, 255
Substâncias tóxicas de desenvolvimento antiestrogênico, 143-144
Substâncias tóxicas de desenvolvimento humano, 138*t*
Substâncias tóxicas neuronais, 220, 224
retinotoxicidade das,
chumbo inorgânico, 245
metanol, 245
organofosforados, 245
solventes orgânicos, 245
Substâncias tóxicas presentes no sangue, 212
Substâncias vasculotóxicas
classificação dos,
cocaína, 262-263
endotoxinas bacterianas, 263-265
esteroides contraceptivos orais, 263
hidrocarbonetos aromáticos, 266
hipervitaminose por vitamina D, 265
metais pesados, 265
monóxido de carbono, 266
nicotina, 262
gases, 264*t*
substâncias industriais e ambientais, 263*t*
substâncias terapêuticas, 264*t*-265*t*
Sudoração, 67
Sulfato de cobre, toxicidade contra, 321
Sulfonação de xenobióticos, 90-91
Suprimento vascular, diagrama esquemático do, 260*f*

T

Tabaco, plantas, 318
Talidomida, 138
TC (toxicocinética), 339
TCD (tranportador de captação de dopamina),
TCE (1,1,2-tricloroetileno), metabolismo do, 341
TCI (Troca entre Cromátides Irmãs), 117, 127-128, 130-132, 132-133*f*
Tecido de lesões, reações adversas ao, 39
Tecido do trato respiratório, cortes de inclusões em parafina do, 215
Tecido linfoide, 164
Tecido muscular cardíaco, organização estrutural do, 251*f*
Técnicas de microensaios de ADN_C, 133-134
Tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT), 157
Teratogênese, 140-141
Teratologia, 6
Teste crônico de carcinogênicidade, 117-118
Teste de Bühler 174
Teste de célula formadora de placa (PFC), 170
Teste de Draize, 240
Teste de função visual
avaliação oftalmológica, 241
irritação e toxicidade ocular, 239-241
técnicas psicofísicas, 241-242
teste comportamental, 241-242
Teste de irritação dermal, 16
Teste de irritação ocular, 16
Teste de linfoma em camundongo,117
Teste de micronúcleos em células germinativas, 130-132
Teste de mutação bacteriana *in vitro*, 49
Teste de mutação de genes,128-129
Teste de mutação gênica *in vitro*, 117
Teste de nódulo linfático local de camundongo, 174
Teste do cometa, 128-130
Teste *in vivo* Chernoff/Kavlock, 144-145
Teste spot em camundongo, 128-130
Testes de células germinativas masculinas, 130-132
Testes de desempenho humanos, 414
Testes de multigerações, 143-144
Testes de mutagenicidade, 128-130
Testes de toxicidade, 396
Testes de toxicidade animal descritivos, **15-17**
estudos de exposição subcrônica, 16
princípios de, 15
sensibilidação, 16
teste de irritação ocular, 16
testes de irritação dermal, 16
testes de toxicidade crônica, 16-17
testes de toxicidade subaguda, 16
toxicidade aguda, 15-16
Testes de toxicidade crônica, 16-17
Testes de toxicidade reprodutiva
avaliação dos, 292-293
escrutínios e estudos multigerações, 290-291
fármacos, 291-292
substâncias químicas desreguladoras endócrinas, 291
Testes de toxicidade subaguda, 16
Testes de toxicologia genética
desenvolvimento de estratégias de testes, 132-133
e citogenética, 133-134
lesão no DNA e testes de reparos, 128-130
mutações em genes,
em eucariotos não mamíferos, 128-130
em mamíferos, 128-131
em procariotos, 128-130
objetivos, 127-129
para mutações em células germinativas, 130-133
sistemas de ativação metabólica *in vitro*, 128-130
testes citogenéticos em mamíferos,
aberrações cromossômicas, 130-132, 130-131*f*
aneuploidia, 130-132
ensaio SCE, 130-132, 132-133*f*
testes transgênicos, 130-131
visão geral da, 128-129*t*
Testes forenses de drogas na urina (TFDU), 413-414
Testes *in vivo*, normas reguladoras para, 143-144
Testículos
células de Leydig,
estrutura e regulação endocrinológica das, 305
desenvolvimento de tumor de células de Leydig,
mecanismos de, 305-306

tumores de células de Leydig,
patologia dos, 305
Tetracloreto de carbono, 188, 342
TFDU, testes forenses de drogas na urina, 413-414
TGF-β, ação fibrótica do, 41-42
Thevetia peruviana, 374
TIH (trombocitopenia induzida por heparina), 156-157
Tireócitos. *Ver* Células foliculares
Tireoide
avaliação de risco, 301-302
economia do hormônio tireóideo, diferenças, 300
estrutura e função normal,
hormônios tireóideos, biossíntese dos, 299
secreção de hormônio tireóideo, 299-300
hormônio tireóideo, bloqueio, 301
indução enzimática microssomal hepática, 301
tumorigenese tireoideana, mecanismos secundários da, 301-302
xenobióticos, síntese de hormônio tireóideo, 300-301
captação de iodo, bloqueio da,
inibição da tireoide peroxidase, 301
Tiroperoxidase (TPO) em células foliculares, 301*f*
Tiroxina, 258
TOCP (tri-*orto*-cresilfosfato), 228
Tolerância, 9
Tomografia computadorizada (TC), 421
Toxicantes. *Ver* Substâncias tóxicas
Toxicidade aguda, 15-16
estrutura, 318t
Toxicidade cardíaca, biomarcadores contra, 253
Toxicidade cardíaca aguda, 207
Toxicidade cardíaca crônica, 252
Toxicidade crônica por ferro, 333-334
Toxicidade cutânea, ocupacional, 273*f*
Toxicidade de desenvolvimento
da cocaíona, 139
da talidomida, 138
de substâncias químicas que interferem nos hormônios, 143-144
direto e indireto, distinção entre ambos, 142
do dietilestilbestrol, 138
do etanol, 138-139
do fumo, 139
dos inibidores de ECA e dos bloqueadores de receptores de angiotensina, 139
dos retinoides, 139
mecanismos e patogenesia da, 140-142
procedimentos de avaliação de risco para, 147
relação entre maternal e, 142-143
testes alternativos no escrutínio prévio quanto a, 144-145, 146*t*
Toxicidade do Mn, 232
Toxicidade do oxigênio, 214
Toxicidade local, 8
Toxicidade materna
associações espécie-específica entre, 142-143
resposta fisiológica ao estresse, 142-143
Toxicidade ocular, 244
Toxicidade óssea, 334-335
Toxicidade placentária, 142-143
Toxicidade radioativa
epidemiologia ambiental, metanálise da, 355
epidemiologia doméstica, metanálise da, 356
estudos ambientais, 354-355
estudos domésticos, 355-356
estudos em humanos, 354
exposição ao radônio, 356
Toxicidade seletiva, 15
Toxicidade sistêmica, 8
Toxicidade vascular, 262
mecanismos de, 261-262
Toxicocinética (TC) e toxicodinâmica (TD), extrapolações interindividuais e interespécies,
considerações na, 52*f*
Toxicocinética
clássica,
absorção, 102
cinética metabólica e, 102-103
clearance, 102
disponibilidade sistêmica, 102-103
eliminação de substâncias químicas, 101
meia-vida de eliminação, 102
modelo de dois compartimentos, 100-101
modelo de um compartimento, 100
volume de distribuição aparente, 101-102
definição, 99
saturação, 103
Toxicocinética de saturação, 103
Toxicocinética fisiológica, 103
Toxicocinética não linear, 103
Toxicogenômica, 17
Toxicologia, **1-3, 5-7**
definição, 6
diferentes áreas da, 6-7
e a sociedade, 7
história da,
antiguidade, 1-2
após a Segunda Guerra Mundial, 3
idade do iluminismo, 2
idade média, 2
renascença, 2
moderna, 3
na morte por envenenamento, 413
Toxicologia alimentar, **402**
padrões de segurança para, 402
ato sobre alimentos, fármacos e cosméticos, 403-404
carcinógenos, avaliação dos, 406
conceito GRAS, importância do, 404-405
métodos, 403-405
suplementos dietéticos, 406
sistema gastrintestinal, importância do, 402
Toxicologia ambiental, 6
Toxicologia analítica, 412
Toxicologia clínica, 6
Toxicologia de emergência
grupo fármaco/fármaco, método analítico, 415*t*
Toxicologia de plaquetas, 156-157
Toxicologia do desenvolvimento, 6
princípios da, 139-141
Toxicologia do sistema ocular, 236
Toxicologia do sistema visual, 236
Toxicologia do trato respiratório, 206
Toxicologia forense, 6, 412
papel analítico na, 413
testemunhar em juízo, 414
Toxicologia genética, 124-125
Toxicologia ocupacional, **429**
determinantes da, 430
determinantes da dose, 430
limites de exposição, 430-431
Toxicologia reprodutiva, 7
Toxicologista descritivo, 6
Toxicologista forense, 413
Toxicologista mecanístico, 6
Toxicologista regulador, 6
Toxinas animais, 259
propriedades das, 362-363
TOXNET. *Ver* rede de dados toxicológicos, 54

Transcrição, desregulação da, 27
Transdução de sinal, desregulação de, 29*f*
agentes que atuam na, 32*t*
e fosforilação de proteínas, 28, 30
extracelulares, 30
TFs, 28
Transfusão de troca, 423
Transportadores de xenobióticos, 59, 60, 60*t*, 220
Transporte ativo, 59
Transporte axonal, 221
diagrama esquemático,221*f*
Transporte passivo, 59
Transporte renal, 198
Tratamento médico de quelação, 327-328
Trato respiratório,
competência metabólica, distribuição de capacidades substanciais, 207
morte celular, 373
reflexo da tosse, 373
rinite alérgica, 373
Triatoma espécies de, picadas de, 366
1,1,2-tricloroetileno (TCE), 341
Trifosfato de adenosina (ATP)
depleção, 30, 33, 34
disponibilidade e formas de morte celular, 36
síntese (fosforilação oxidativa) na mitocôndria, 33*f*
Tri-*orto*-cresil fosfato (TOCP), 228
Trocas de plasma, 422
Trombina, 157
Trombocitopenia, causas da, 156
Trombocitopenia induzida por heparina, 156-157
Trombócitos, 156
Trombose, 261
Tumor de von Hippel-lindau, 341
Tumores de células de Leydig, 305, 306
Tumores de células granulosas, 307
Tumores ovarianos, 306, 307
estudos, 307-308
substâncias xenobióticas,
moduladores seletivos de receptor estrogênico, 307
nitrofurantoína, 307
Tumorogênese ovariana,
mecanismos patogênicos múltiplos na, 307*f*

U

Ulceração no estroma, 242
Urticária, 278

V

Valores limites de limiar (VLLs), 339
Varfarina, efeito tóxicos, 158
Variáveis que influenciam a deposição de partículas, 209*f*
Velocidade de filtração glomerular (VFG), 195
Venenos de serpentes, 368
componentes dos, 362*f*
Veratrum viride, 374
VFG (velocidade de filtração glomerular), 195
Via de administração e absorção de substâncias tóxicas, 63
Vias de exposição a solventes, 338*f*
Vias de sinalização intercelular, metazoários, 147*t*
Vírus DNA, infecções por, 116
Vírus sarcoma de Roux (VSR), 116
Visão em túnel, 246
Viscosidade do sangue, 262
Viscum álbum, 374
Vitamina D, hipervitaminose, 265
Vitamina K, fatores de coagulação dependente da,
Volume aparente de distribuição (V_{ad}) 101-102
Volume expiratório forçado (VEF), 215
Volume Residual (VR), 116
Volume residual (VR), 206
Volume tidal (VT), 207
Volumes pulmonares, 208*f*, 215
VR (Volume Residual), 206
VSR (Vírus Sarcoma de Roux), 236

W

Wilson, doença de, 332-333

X

Xantina desidrogenase (XD), 76
Xantina oxidoredutase (XO), 76
XD (xantina desidrogenase), 76
Xenobióticos, 255, 261, 299
anemia megaloblástica, 152*t*
anemia sideroblástica, 151*t*
atividade biológica de, 272
autoimunidade devido a, 175-176, 176*t*
biotransformação dos, 392-393
conjugação com aminoácidos, 94
conjugação com glutationa, 93*t*, 95-96
cooxidação dos, 76*f*
destino dos, 58
e os inibidores de fatores de coagulação, relação entre, 158*t*
Efeitos tóxicos na função plaquetária, 157
Eixo hipófise-tireoide, 300
excreção, 65
glicuronidação, 86
hipersensibilidade devido a, 173-175, 173*f*
imunomodulação por, 172-173
lesões andoxidativas, 154
ligação a proteínas plasmáticas, 24
Locais de ação nos sistema visual central e ocular, 238*t*
metemoglobinemia, 153*t*
modificação química dos, 72
N-acetilação, 93
ROS e RNS, 34
Transporte através das membranas, 105
Xenobióticos anfipáticos, acúmulo dos, 23-24
Xenobióticos associados com lesão oxidativa, 154
XO (xantina oxidoredutase), 76

Z

Zona alveolar, 211